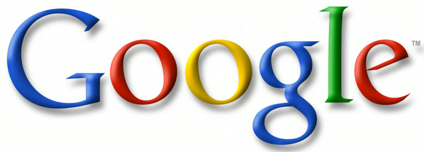
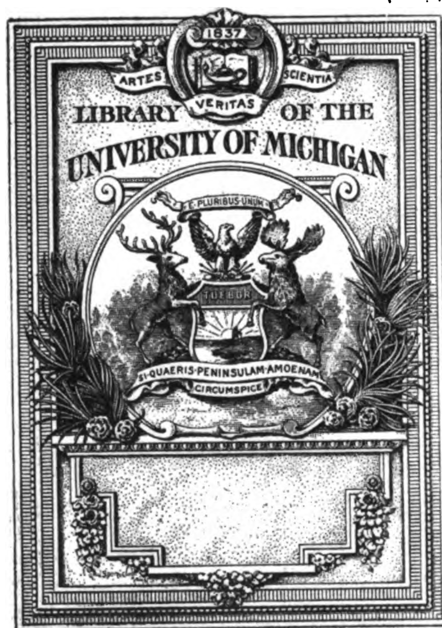




Annales de micrographie spécialement consacrées à la ...


1837
ARTES
VERITAS
SCIENTIA
LIBRARY OF THE
UNIVERSITY OF MICHIGAN
E PLURIBUS UNUM
TUEBOR
SI QUAERIS PENINSULAM AMOENAM
CIRCUMSPICE

Tome Neuvième. N° 11 Novembre 1897

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

SPÉCIALEMENT CONSACRÉES

A LA BACTÉRIOLOGIE

AUX PROTOPHYTES ET AUX PROTOZOAIRES

RÉDACTEUR PRINCIPAL

P. MIQUEL, Docteur en médecine, Docteur ès Sciences
Directeur du Service micrographique à l'Observatoire municipal de Montsouris

SECRÉTAIRES DE LA RÉDACTION

FABRE-DOMERGUE, Docteur ès Sciences, Directeur adjoint du laboratoire de Zoologie maritime de Concarneau.

Ed. DE FREUDENREICH, Directeur du Service bactériologique de l'école de laiterie de la Rütti (Berne).

PRIX DE L'ABONNEMENT

PARIS : UN AN, **20** FR.

DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : **22** FR.

PARIS

GEORGES CARRÉ ET C. NAUD, ÉDITEURS

3, RUE RACINE, 3

Sommaire du n° 11

Les *Annales de Micrographie* paraissent chaque mois par fascicule de 48 pages et forment, au bout de l'année, un beau volume de 600 pages, accompagné de planches et de nombreuses figures dans le texte.

Toutes les communications relatives à la rédaction des *Annales* doivent être adressées, au Dr MIQUEL, 100, *rue Amelot*, et tout ce qui concerne les abonnements ou l'administration à MM. Georges CARRÉ et C. NAUD, Editeurs, 3, *rue Racine*.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

TOURS. — IMPRIMERIE DESLIS FRÈRES.

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

SPÉCIALEMENT CONSACRÉES

A LA BACTÉRIOLOGIE
AUX PROTOPHYTES ET AUX PROTOZOAIRES

RÉDACTEUR PRINCIPAL

P. MIQUEL, Docteur en médecine, Docteur ès Sciences
Directeur du Service micrographique à l'Observatoire municipal de Montsouris

SECRÉTAIRES DE LA RÉDACTION

FABRE-DOMERGUE, Docteur ès Sciences, Directeur adjoint du laboratoire de Zoologie maritime de Concarneau.

Ed. DE FREUDENREICH, Directeur du Service bactériologique de l'école de laiterie de la Rütti (Berne).

TOME NEUVIÈME
1897

PARIS

GEORGES CARRÉ ET C. NAUD, ÉDITEURS

3, RUE RACINE, 3

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES SUR LE KÉFIR

PAR

ED. DE FREUDENREICH

Le kéfir est un lait fermenté dont la patrie est le Caucase. Cette fermentation spéciale est produite au moyen des *grains de kéfir*, petits corps jaunâtres, durs, environ de la grosseur d'un petit pois, rappelant un peu l'aspect du chou-fleur, surtout quand on les a trempés dans de l'eau. Il n'est guère possible de déterminer leur origine ; on les emploie depuis des temps immémoriaux parmi les peuplades du Caucase qui leur ont donné le nom de « millet du prophète ». Ce serait, en effet, le prophète Mahomet qui l'aurait apporté lui-même comme don d'Allah[1]. De fait, ces grains sont, à l'état sec, très semblables à des grains de millet.

La préparation du kéfir, dans le Caucase, est assez primitive. Des outres, faites de peau de chèvre, sont remplies de lait auquel on a ajouté ce ferment, et on les abandonne à elles-mêmes pendant quelque temps en les secouant de temps à autre. Au bout de quelques jours, la fermentation est suffisamment avancée, et le kéfir peut se boire. On en laisse un peu au fond de l'outre et on rajoute du lait qui subit à son tour la même fermentation. On peut alors enlever les grains que l'on sèche et que l'on conserve soigneusement pour s'en servir dans une autre occasion.

Dans les pays civilisés dans lesquels l'usage de cette boisson s'est introduit, le procédé de préparation du kéfir

(1) D'après Ieffimoff, « Kéfir viendrait de Kefy », synonyme, dans la langue locale, de « meilleure qualité ».

a été un peu perfectionné. D'habitude on commence par faire gonfler les grains dans de l'eau qu'on change souvent, puis on verse dessus environ 1/2 litre de lait cuit et refroidi (pour 10 grammes de grains à peu près). On agite fréquemment le vase que l'on tient à une température d'environ 17 degrés, et, après 24 heures, on sépare les grains au moyen d'une passoire et on verse le lait dans des bouteilles munies d'une fermeture comme les bouteilles à bière. On les abandonne pendant 2 à 3 jours à une température de 17°, en agitant de temps à autre et, au bout de deux à trois jours, le kéfir peut être bu. En attendant un ou deux jours de plus on obtient un kéfir renforcé.

Lorsqu'on a une fois une bouteille de kéfir ayant bien réussi, rien n'est plus facile que d'en faire du nouveau ; il suffit d'en ajouter quelques cuillerées à une nouvelle bouteille de lait cuit et refroidi et de traiter celle-ci de la même façon ; on peut aussi laisser un reste au fond de la première bouteille et remplir celle-ci à nouveau.

La fermentation subie par le lait est principalement une fermentation lactique et une fermentation alcoolique, avec production d'acide carbonique. Le kéfir constitue une boisson agréable et rafraîchissante que l'on emploie fréquemment dans l'alimentation des malades. On a aussi cru y trouver de la peptone, ainsi Biel[1]. Selon cet auteur, la quantité de caséine diminuerait pendant la fermentation, tandis que l'acidalbumine augmenterait.

D'après O. Hammarsten, au contraire, la caséine n'est pas attaquée, la teneur en albumine diminue, mais on ne trouve pas de peptone. Les corps considérés comme tels seraient de la propeptone (hémialbumose), et surtout une substance albuminoïde, probablement de la caséine ou albumine transformée par la chaleur. On peut donc admettre que la caséine ne subit pas d'altération proprement dite, et que le sucre de lait joue ici le rôle principal en se dédoublant en alcool, acide lactique et acide carbonique. C'est tout au plus si la caséine est l'objet d'une modification physique consistant à se diviser en flocons plus ténus, par suite de l'agitation fréquente de la bouteille et de la fer-

(1) *Pharm. Zeitung für Russland*, XXV, n°s 11 et 18.

mentation lactique. Le Dr Blank également, qui a analysé du kéfir en 1885, n'a constaté que la production d'alcool, d'acide lactique et d'acide carbonique.

La fermentation du kéfir a tous les caractères d'une fermentation due à des agents microbiens; aussi le kéfir a-t-il, depuis longtemps déjà, été l'objet d'études bactériologiques.

Kern, un des premiers, s'en est occupé (1). Ses études microscopiques et ses essais de culture l'ont amené aux conclusions suivantes:

I. — Les grains de kéfir donnent un exemple intéressant de symbiose entre les levures et les bactéries.

II. — Les cellules de levure doivent être considérées comme la levure ordinaire de la bière.

III. — Les bactéries qui, à leur état végétatif, se distinguent à peine du *Bacillus subtilis* de Cohn, peuvent, en raison de leur formation particulière de spores, être considérées comme une espèce nouvelle: *Dispora caucasica*, *nov. gen. et nov. species.*

IV. — Les cellules végétatives de la *Dispora caucasica* font nettement voir une membrane entourant la cellule.

V. — Les cellules mobiles de la *Dispora caucasica* montrent à l'un de leurs bouts un flagellum mince et filiforme.

VI. — Les grains de kéfir et surtout les cellules végétatives et les spores de la *Dispora caucasica* sont très résistantes à l'égard des influences extérieures.

Kern a remarqué avec justesse que le kéfir nous offre un exemple marqué de symbiose, et les figures qui accompagnent son travail donnent, en partie, une image exacte de l'aspect macroscopique et microscopique des grains de kéfir. Mais, étant donné le degré peu développé de la technique bactériologique à l'époque de ses recherches, ses cultures paraissent ne pas avoir été pures, et plusieurs de ses conclusions ne sont, par conséquent, pas exactes.

Kern n'employait que des milieux de cultures liquides, aussi ses cultures contenaient-elles une foule de microorganismes qui n'étaient évidemment que des impuretés. Si, d'une part, il semble bien avoir observé une des parties

(1) *Bulletin de la Société impériale des naturalistes de Moscou*, 1881, n° 3. On peut aussi citer les travaux de Sipowitz (1867) et de Schabloffsky (1877).

essentielles des grains de képhir, la *Dispora caucasica*, il me paraît indubitable que, en raison de la contamination de ses cultures, il a introduit dans le cycle évolutif de ce microorganisme des formes qui n'ont rien à y voir. Ainsi certaines de ses figures ne représentent pas autre chose que de vulgaires bacilles du foin, qui, probablement, n'étaient qu'une contamination fortuite des grains de kéfir. De plus, je ne puis admettre son identification de la levure du kéfir avec la levure ordinaire de bière, et, enfin, il n'a pas isolé certains microorganismes qui jouent précisément un rôle prépondérant dans cette fermentation, savoir les ferments lactiques. Par contre, il a observé avec justesse, ainsi que je l'ai déjà dit, que la fermentation du kéfir est due à une symbiose de différents microorganismes. N'ayant point eu de cultures pures, Kern n'a pas pu s'en servir pour faire du kéfir. Il ne précise pas davantage le rôle de sa *Dispora caucasica* et semble attribuer la fermentation à l'activité de la levure.

Un peu plus tard, Krannhals répéta les expériences de Kern. Cet auteur distingue dix formes différentes des bactéries du kéfir (bâtonnets tout à fait ronds, etc., etc.). Mais il semble, d'après ces descriptions, et Krannhals paraît le croire lui-même autant que je puis en juger par son mémoire, ne s'agir, la plupart du temps, que des formes différentes d'une même bactérie. La levure, d'après lui, est ronde ou ovale. Le rôle spécifique appartiendrait aux bâtonnets munis de renflements à leurs extrémités.

Krannhals a également fait des essais de culture avec le liquide de culture de Kern et la gélatine. Il n'a toutefois employé cette dernière que pour des cultures en chambre humide. Dans celle-ci il n'observa de phénomènes de croissance que chez les bâtonnets ronds, qui me paraissent, d'après ses dessins, n'être qu'une contamination fortuite. Il a vu des spores aux extrémités des bâtonnets, et il considère ceux-ci comme identiques avec la *Dispora caucasica* de Kern. Krannhals n'a pas essayé de reproduire du kéfir avec ses cultures, et il ne dit rien, non plus, des autres microorganismes qui, ainsi que nous le verrons, se rencontrent constamment dans le kéfir. Ce sont des microorganismes que Krannhals a probablement pris

pour des spores de son bacille, car il dit que celui-ci se présente parfois sous la forme de corps ronds, isolés, brillants, ou sous la forme de corps ovoïdes, souvent en chaînettes.

Un autre travail est celui de Beyerinck (1). D'après lui, la levure, *Saccharomyces kéfir*, transformerait le sucre de lait en alcool et en acide carbonique. Cette levure, facile à cultiver, produirait un enzyme invertissant le sucre de lait, le dédoublant en glucose et galactose. Il nomme cet enzyme lactase.

Je ne crois pas que Beyerinck ait eu en main la vraie levure du kéfir, car tous les autres auteurs sont d'accord pour dire que la levure du kéfir n'est pas capable, *à elle seule*, de faire fermenter le sucre de lait, un fait que j'ai également pu constater.

Beyerinck décrit, de plus, un bacille qu'il n'a pu cultiver qu'avec peine. Il ne croît sur la gélatine au sérum de lait qu'après 2 à 3 semaines; il ne produit ni lactase, ni invertine. Avec le sucre de lait, le sucre de canne, la maltose et la glucose, il fait de l'acide lactique. La température qui lui convient le mieux est celle de 40-45 degrés. Il est aérobie ou anaérobie. Les dessins de Beyerinck et la difficulté qu'il a eue à l'isoler me font paraître probable qu'il a eu sous les yeux le même bacille que j'ai rencontré dans mes recherches et qui est probablement identique avec la *Dispora caucasica*, en tant que celle-ci constitue une partie intégrante des grains de kéfir, vu que les bactéries observées par Kern dans ses cultures n'étaient probablement, ainsi que je l'ai dit plus haut, qu'une contamination fortuite.

Beyerinck a aussi constaté une agglutination des cellules de levures et des bacilles et pense que c'est peut-être le début de la formation des grains de kéfir.

Beyerinck ne dit pas, par contre, s'il a pu produire du kéfir en ensemençant ces deux microorganismes dans du lait. Quant aux ferments lactiques toujours présents

---

(1) Beyerinck, Sur le Kéfir. *Archives néerlandaises des sciences exactes et naturelles*, XXIII, p. 428; 1889.

dans le kéfir, il dit seulement qu'ils se trouvent dans les grains de kéfir, mais il ne semble pas leur attribuer un rôle important.

Scholl (1), au contraire, dit avec raison que la levure du kéfir n'est pas à même de décomposer le sucre de lait; d'après lui, les grains de kéfir contiendraient trois espèces de microorganismes : la levure; un bactérium, ferment lactique, qui attaquerait le sucre de lait en produisant de l'acide lactique et hydraterait une partie du sucre de lait, lequel serait alors transformé en sucre de lait par la levure; et, enfin, la *Dispora caucasica*. Scholl admet que celle-ci peptonise en partie la caséine.

Adametz, également, a fait des recherches sur le kéfir. Je ne connais, toutefois, ses résultats que par une conférence tenue, en 1889, à Vienne, dans la Société des Agriculteurs et des Forestiers, sur les bactéries du lait normal et anormal. Adametz conclut aussi que les bacilles cultivés par Kern n'ont rien à voir avec la *Dispora caucasica* que l'on voit dans les grains du kéfir; lui, également, n'a réussi à cultiver que divers bacilles vulgaires et mobiles. En ce qui concerne la levure, il en a cultivé trois espèces, dont aucune, toutefois, ne pouvait faire fermenter le sucre de lait.

Schuppan (2) parle, dans son travail, d'analyses bactériologiques du kéfir qui auraient démontré la possibilité de produire du kéfir avec les microbes isolés des grains. Il ne donne, toutefois, aucuns détails sur ces expériences.

Un dernier travail est celui de Nicolai Essaulof (3). Cet auteur a constamment pu isoler le *Saccharomyces kéfir*, le *Bacillus acidi lactici* et le *Bacillus subtilis* de grains de kéfir de provenances diverses. Tous les autres microorganismes que l'on y rencontre parfois ne seraient que des contaminations auxquelles les insuccès fréquents dans la préparation du kéfir seraient attribuables. Aucune des trois bactéries en question ne pourrait, ensemencée seule dans du lait, transformer celui-ci en kéfir; mais des cul-

---

(1) Scholl, *Die Milch*. p. 38.

(2) *Centralblatt für Bacteriologie*, XIII, p. 557.

(3) Sur le Kéfir. *Recherches bactériologiques et chimiques*. Thèse Mascon, 1895. Analysé dans la *Molkereigeitung* ; 1895. p. 283.

tures contenant un mélange de ces 3 microorganismes donneraient avec du lait un produit fermenté pareil au kéfir, attendu que l'on y retrouverait de l'alcool, de l'acide carbonique, de l'acide lactique et de la peptone. Avec la levure et le bacille lactique, on obtiendrait le même produit qu'avec les 3 microorganismes. L'auteur pense, par conséquent, que le bacille subtil ne joue aucun rôle dans cette fermentation. Peut-être contribuerait-il à la formation des grains, en retenant dans ses filaments et dans la pellicule qu'il forme en croissant les levures et les bacilles lactiques.

Essaulof a certainement raison en disant que le *Bacillus subtilis* ne prend aucune part dans la fermentation du kéfir ; je ne crois, toutefois, pas non plus qu'il participe à la formation des grains de kéfir ; ce rôle serait plutôt celui du bacille découvert pas Kern. Quant à savoir si la levure peut seule, avec le *Bacillus acidi lactici*, produire du kéfir, je ne puis me prononcer à cet égard ; pour ma part, je n'ai pas trouvé le *Bacillus acidi lactici*, mais d'autres ferments lactiques. C'est possible, et je ne crois pas non plus que l'on trouve nécessairement toujours les mêmes ferments lactiques dans le kéfir. La levure et le bacille de Kern y seront toujours, mais rien ne nous dit que l'on ne puisse y rencontrer des espèces différentes de ferments lactiques, à condition que ceux-ci produisent les dédoublements et fermentations nécessaires.

En dehors de ces travaux, il n'y a pas grand'chose à mentionner. Le nombre des publications sur le kéfir est, il est vrai, assez considérable, mais la plupart de celles-ci ont plutôt des questions de thérapeutique en vue, et celles qui s'occupent aussi du côté bactériologique de la question ne contiennent rien de nouveau.

Si l'on résume les résultats qui précèdent, on peut dire que le kéfir est un exemple de symbiose de plusieurs microorganismes, parmi lesquels on rencontrerait : une levure qui, d'après la plupart des auteurs, ne ferait pas, à elle seule, fermenter le sucre de lait, probablement un ferment lactique, et un bacille qui n'a vraisemblablement été encore cultivé que par Beyerinck et qui paraît être identique avec le bacille des grains de kéfir, bacille décrit, mais non cultivé, par Kern, sous le nom de *Dispora caucasica*. On n'a, par contre,

pas encore précisé le rôle respectif de ces microorganismes dans la fermentation du kéfir.

Les recherches dont je vais parler maintenant ont été commencées en 1892 déjà, et je les ai continuées, avec des interruptions, jusqu'à ces derniers temps. Si, en effet, l'isolement des différents microorganismes n'a pas été une tâche par trop difficile, il en a été autrement de la synthèse du kéfir, c'est-à-dire de la production de kéfir au moyen des cultures obtenues.

En ce qui concerne l'examen microscopique des grains de kéfir, je ne puis que confirmer les observations de Kern, et je renvoie le lecteur aux figures qui accompagnent son travail. A l'état sec, ces grains sont sphériques ou elliptiques, jaunâtres, de 2 à 3 millimètres jusqu'à 3, 4 et 5 centimètres d'épaisseur. Dans l'eau, les grains gonflent et deviennent blanchâtres. C'est alors qu'ils ont l'aspect de choux-fleurs. Pour faire des préparations microscopiques on prend avec une pincette une parcelle d'un grain gonflé et on l'écrase sur un couvre-objet; on colore, à la fuchsine, au bleu de méthylène ou au violet de méthylène. Dans ces préparations, on voit alors de nombreuses cellules de levure et de longs bacilles souvent courbes, qui ressemblent à ceux dessinés par Kern ; on voit aussi des bacilles plus courts, probablement le même organisme, mais plus jeunes, et aussi quelques microcoques; ceux-ci sont, toutefois, plus rares.

Dans de vieux grains de kéfir restés longtemps à l'état sec les bacilles se colorent mal et ne montrent que quelques points colorés; souvent ceux-ci se trouvent aux deux pôles, et il est probable que Kern a peut-être, par erreur, pris ces points colorés pour des spores, ce qui lui a fait donner le nom de *Dispora caucasica* à ce microorganisme. Il est vraisemblable, cependant, ainsi que je l'ai dit plus haut, que la plupart des bacilles vus par Kern dans ses cultures n'étaient pas autre chose que des bacilles subtils ou des bacilles analogues. Je n'ai jamais vu de spores dans les cultures pures du bacille des grains de kéfir. Je proposerais, par conséquent, le nom de *Bacillus caucasicus* au lieu de celui de *Dispora caucasica*.

Dans mes premiers essais de culture, je me servis de

grains de kéfir de provenances diverses. Les grains, gonflés dans de l'eau, étaient soigneusement lavés plusieurs fois de suite dans de l'eau stérilisée, un petit morceau était trituré dans de l'eau également stérilisée, et on en faisait des plaques. Je vis cependant bientôt qu'ainsi je n'arriverais pas au but. Souvent les plaques restaient stériles, probablement parce que la gélatine n'était pas un milieu suffisamment favorable pour faire éclore les germes desséchés. D'autres fois, malgré les lavages répétés, les grains restaient contaminés par des germes étrangers (bacilles liquéfiants, etc.), qui prenaient le dessus sur les plaques.

Quelquefois, enfin, je pus réussir à isoler la levure du kéfir et des microcoques ovales, mais jamais le bacille si nombreux dans les grains.

J'employai alors, comme point de départ des cultures, un kéfir tout fait, que je commençai par purifier en le renouvelant, pendant plusieurs générations, dans du lait stérilisé. Pour isoler les microorganismes, je me servis d'abord de plaques de gélatine et, plus tard, voyant que je n'arrivais pas au but ainsi, de plaques d'agar (additionné de sucre de lait) en surface (voir *Centralblatt für Bakteriologie*, XV, p. 643). Je fis aussi des cultures anaérobies, soit dans l'hydrogène, soit dans des tubes de gélatine recouverts de vaseline à la paraffine (méthode de Miquel).

Pour ne pas fatiguer le lecteur, je ne citerai pas en détail les innombrables analyses bactériologiques que j'ai faites, et je me bornerai à en résumer succinctement les résultats.

Dans les préparations microscopiques du kéfir, — pour cela on étend une gouttelette de kéfir sur un couvre-objet, on passe à la flamme, on enlève la graisse par le chloroforme et on colore en mettant quelques gouttes d'une solution alcoolique concentrée de bleu de méthylène sur la préparation, — on voit généralement, lorsque le kéfir est pur, quatre espèces de microorganismes, une levure, de gros microcoques disposés en chaînettes, des coccus plus petits et des bacilles. Sur les plaques de gélatine j'obtins facilement des colonies de la levure et du gros streptocoque, que j'appellerai *streptocoque a*. Le petit microcoque, qui se trouva aussi appartenir à la variété des streptocoques, *streptocoque b*, y poussa aussi quelquefois,

mais pas le bacille, ni sur la gélatine ordinaire, ni sur celle additionnée de sucre de lait. Une fois seulement, je rencontrai des colonies de ce dernier sur une plaque anaérobie. Sur les plaques d'agar en surface, par contre, j'obtins facilement le streptocoque *b*, avec le streptocoque *a* et aussi de toutes petites colonies du bacille, qui, ainsi que la suite le montra, se trouva être identique avec le *Bacillus caucasicus*. J'ajouterai cependant que ceci ne réussit pas toujours; souvent je ne trouvai aucune colonie du bacille, sans que je puisse indiquer la raison de ce fait.

Pour cultiver ces 4 microorganismes, j'employai encore un autre procédé: j'ensemençai simplement une gouttelette de kéfir dans un tube d'agar en surface inclinée. Après quelques jours, on voit se former, à 22 degrés, un gazon composé des 4 microorganismes précités, cultures que l'on pourrait appeler cultures mixtes.

Pour isoler plus facilement le *Bacillus caucasicus*, on peut aussi commencer par ensemencer par piqûre un peu de kéfir dans un tube d'agar tenu à 37 degrés. A cette température, on ne voit guère pousser que le bacille et le streptocoque *b*. Les plaques d'isolement que l'on fait alors sur un agar en surface réussissent plus facilement.

Avant de décrire les expériences faites en vue de la production de kéfir au moyen de ces 4 microorganismes, je commencerai par décrire brièvement ces derniers.

Saccharomyces kéfir

Sur plaques de gélatine cette levure donne de très petites colonies qui, examinées à un faible grossissement, présentent une teinte pâle et une granulation grossière.

Sur les plaques de seconde dilution sur lesquelles on voit les colonies s'étaler à la surface, celles-ci sont plus foncées. Elle croît aussi dans les cultures par piqûres, mais moins abondamment dans la gélatine ordinaire que dans celle additionnée de sucre de lait. Dans la piqûre, la culture forme une succession de petites perles, à la surface un gazon blanchâtre peu épais.

Sur les plaques de gélatine au sucre de lait les colonies sont jaunâtres à l'œil nu, rondes et mieux développées que sur gélatine ordinaire. Les colonies situées près de la surface ont un centre plus foncé. La granulation est grossière près des bords. Les colonies très jeunes et encore très petites ont beaucoup de ressemblance avec celles des deux streptocoques. Sur les plaques moins chargées les colonies de la surface sont bien développées et blanchâtres ; dans la suite, elles deviennent aussi jaunâtres, comme celles de l'intérieur. Au microscope on voit une granulation grossière, mais celle-ci n'est visible qu'aux bords ; le milieu de la colonie est brun foncé.

Les cultures par piqûres sont déjà bien visibles après 24 heures.

Sur les plaques le développement est aussi assez rapide ; les colonies se voient généralement déjà après 2 à 3 jours.

Dans le bouillon de viande ordinaire tenu à 20 degrés, un trouble commence à se produire déjà après 24 heures.

Dans le bouillon additionné de sucre de lait, le trouble commence également après 24 heures ; mais le développement est moins abondant que dans le moût de bière. Dans celui-ci la croissance est très belle ; il y a production de gaz, mais moins que dans les cultures de levure de bière, ainsi que nous le verrons. La levure du kéfir fait donc fermenter la maltose. Dans les solutions de sucre de canne, elle provoque également une fermentation avec production d'alcool.

Le *Sacch. kéfir* ne fait pas fermenter le lait ; mais il s'y développe bien et lui donne un goût particulier différent de celui de la levure de bière. Microscopiquement, le lait ne subit pas d'altération.

La levure du kéfir croît aussi sur pommes de terre et y forme un gazon jaunâtre.

La température qui lui convient le mieux est celle d'environ 22 degrés. A 28 degrés, elle croît encore, mais à 35 je ne l'ai plus vue se développer.

Morphologiquement cette levure est composée de cellules généralement ovales, de grandeur variable, en moyenne longues de 3 à 5 μ et larges de 2 à 3 μ. On voit aussi des cellules rondes, surtout dans les cultures sur pomme

de terre. Dans les préparations dans lesquelles les cellules sont très rapprochées, les bords s'enfoncent, et les cellules prennent alors des formes anguleuses, phénomène qui se voit d'ailleurs aussi chez d'autres levures. Les cellules se colorent facilement avec les couleurs d'aniline usuelles et aussi d'après la méthode de Gram. Dans les cellules colorées, on voit presque toujours une place mal colorée, généralement au milieu, quelquefois à l'un des bouts. Cette place incolore représente une vacuole, ainsi qu'on le voit sur les préparations non colorées. Elles manquent toutefois chez quelques cellules. Le protoplasme contient une ou plusieurs granulations brillantes.

Cette levure n'est-elle qu'une simple levure de bière, comme d'aucuns l'ont prétendu? Une comparaison avec les *Sacch. Past.* I, II et III, avec le *Sacch. cerevisiæ* et le *Sacch. ellipsoïdeus*, m'ont montré que ce n'est pas le cas. Morphologiquement déjà, le *Sacch. kéfir* se distingue de la plupart de ces variétés. Le *Sacch. Past.* I est, il est vrai, aussi composé principalement de cellules ovales; mais, à côté de celles-ci, on voit de nombreuses cellules rondes et allongées, en forme de boudin. Chez le *Sacch. Past.* II on rencontre surtout des cellules rondes à côté de cellules ovales ou en forme de boudin. Le *Sacch. Past.* III montre beaucoup de cellules en forme de boudin, en outre des cellules ovales et rondes. Le *Sacch. ellipsoïdeus* est celui qui s'en rapproche le plus, mais il se comporte différemment dans le moût de bière. En effet, lorsqu'on ensemence ces différentes levures dans du moût de bière stérilisé, on constate, après 2 jours déjà, à 20 degrés, une vive fermentation dans les ballons ensemencés avec les *Sacch. Past.* I, II et III; dans ceux ensemencés avec les *Sacch. ellipsoïdeus et cerevisiæ* la production de gaz ne devient à ce moment apparente que lorsqu'on agite le flacon, on voit alors les bulles de gaz s'élever dans le liquide; après quelques jours cependant, le liquide de ces ballons se recouvre aussi d'écume. La levure du kéfir produit aussi une fermentation, mais beaucoup plus faible, qui n'est visible que quand on agite le vase, et jamais le liquide ne se recouvre d'écume. De plus, les *Sacch. Past.* II et III, le *Sacch. ellipsoïdeus*

et le *Sacch. cerevisiæ* déterminent une vive fermentation aussi à 35 degrés, tandis qu'à cette température le *Sacch. Past.* I et le *Sacch. kéfir* ne se développèrent pas dans mes expériences. Le *Sacch. kéfir* ne forme jamais non plus de pellicule, ce qui est toujours le cas dans les cultures des autres cinq levures. Je n'ai pas non plus pu observer de formation d'ascospores chez la levure du kéfir. Ainsi, bien que ces différentes levures aient une certaine parenté, puisque toutes elles peuvent faire fermenter la maltose, nous possédons dans l'énergie de cette fermentation, dans leur manière de se comporter à l'égard de la température et dans leur morphologie assez de signes différentiels pour pouvoir considérer le *Sacch. kéfir* comme une variété particulière.

A l'égard des agents extérieurs, la levure du kéfir n'est pas douée d'une grande force de résistance.

Pour déterminer sa résistance à l'égard de la chaleur, de petits tubes de verre stérilisés furent remplis d'une culture bien développée dans du moût de bière, fermés à la lampe et exposés au bain-marie à des températures de 50, 55 degrés et jusqu'à 85 degrés pendant 5 minutes; après quoi le contenu du tube était ensemencé dans un ballon de moût de bière stérilisé. A la température de 50 degrés déjà, la levure fut tuée dans cette expérience. Dans une seconde expérience, on débuta par une température de 45 degrés ; dans cette expérience la levure supporta pendant 5 minutes les températures de 45 et 50 degrés, mais ne résista pas à celle de 55 degrés. La limite n'est donc pas loin de 50 degrés.

La dessiccation est également mal supportée par le *Sacch. kéfir*. Des morceaux de papier joseph stérilisés, puis plongés dans une culture et ensuite séchés, donnaient encore, ensemencés dans du moût de bière, de belles cultures après 2 et 3 jours ; mais, après 4 jours et plus, ils ne fécondaient plus les liquides de culture. Ceci semble être en contradiction avec le fait que la levure reste longtemps vivante dans les grains de kéfir ; il est probable que dans l'intérieur de ces derniers, la dessiccation n'est pas aussi parfaite que sur des morceaux de papier.

Le sublimé et l'acide phénique la tuent facilement. Une

culture fut additionnée d'une quantité égale d'une solution à 2 p. 1000 de sublimé et, après 30 secondes, 1, 2, ..., 10 minutes, une anse de platine de ce mélange contenant ainsi 1 p. 1000 de sublimé était ensemencée dans un liquide de culture. La petite quantité de désinfectant que l'on ensemence en même temps ne nuit pas à la croissance de la levure, ainsi que le démontrèrent les expériences de contrôle. Après 30 secondes, il y eut encore croissance; après une minute également, mais avec du retard; après 2 minutes et plus la levure ne se reproduisit plus.

L'acide phénique à 2 1/2 p. 100 (solution à 5 p. 100, mélangée à parties égales avec une culture) détruit la levure déjà après 30 secondes.

Streptocoque a

Sur les plaques d'agar sucré (sucre de lait) en surface âgées de 2 jours et assez chargées de colonies, ces dernières sont rondes et, à l'œil nu, de couleur grisâtre. Vues à un faible grossissement, elles sont blanchâtres aux bords et jaune foncé au centre ; une granulation grossière leur donne l'apparence d'un paquet de cheveux. Sur les plaques moins chargées, elles paraissent grises à l'œil nu, jaune brunâtre au faible grossissement, avec un bord blanchâtre. Elles ressemblent alors beaucoup aux colonies du streptocoque *b*, et sont seulement un peu plus foncées et ont une granulation un peu moins fine.

Sur gélatine ordinaire les colonies restent fort petites et pâles ; au faible grossissement elles sont jaune clair. La granulation est grossière et visible après 3 jours. Chez les colonies placées à la surface le centre devient foncé et la granulation n'est plus visible qu'aux bords.

Sur gélatine additionnée de sucre de lait, la croissance est plus abondante ; les colonies sont assez grosses, rondes et, vues à l'œil nu, blanchâtres, surtout à l'intérieur de la gélatine. Les colonies de la surface, plus blanches, montrent à un faible grossissement un centre plus foncé, et la granulation, assez grossière, n'est visible qu'aux bords. Les colonies et leurs bords sont moins clairs que ce n'est le

cas chez les colonies du streptocoque *b*. Les cultures par piqûre sont bien visibles déjà après 2 jours, mais à peine après 3 jours dans la gélatine ordinaire. Le sucre favorise la croissance qui reste toujours maigre sur les milieux non sucrés. Dans la piqûre, la culture est toujours mieux développée qu'à la surface.

Dans le bouillon sucré (5 p. 100 de sucre de lait) on ne constate encore aucun développement après 24 heures, ni à 22, ni à 35 degrés. Après 48 heures, le trouble est prononcé à 22, moins à 35 degrés. A cette dernière température, le trouble est aussi très prononcé après 3 jours. La réaction devient acide. La température la plus favorable est ainsi celle de 22 degrés.

Dans le bouillon ordinaire, la croissance est beaucoup plus faible et fait même parfois complètement défaut.

Le lait est coagulé à 35 degrés, après 48 heures ; à 22 degrés la coagulation se produit le 4e jour. Ici donc l'élévation de la température qui, par elle-même, n'est pas favorable à cet organisme, facilite la coagulation.

Sur pomme de terre ce microorganisme ne croît pas. A la place sur laquelle on a déposé une gouttelette de culture, on retrouve plus tard des micrococques, mais ils se colorent mal et paraissent déjà dégénérés.

Tout ceci caractérise le streptocoque *a* comme un ferment lactique. Dans la fermentation du kéfir la tâche qui lui incombe consiste à produire la coagulation du lait, ce qui donne au kéfir, après que la bouteille a été souvent agitée, son apparence floconneuse et spéciale. Le goût légèrement acide du kéfir est également dû en grande partie à l'acide lactique formé par ce microorganisme.

Dans les préparations faites avec des cultures d'agar âgées de 2 jours, on voit des micrococques ovales formant souvent des chaînettes de 3 à 4 individus, mais pas de longues chaînes. Dans le lait, la longueur moyenne des micrococques est environ de 1/4-1/2μ, mais de nombreux individus sont passablement plus grands, de sorte que ce microorganisme donne l'impression d'un assez gros micrococque. Dans le bouillon sucré on voit de longues chaînes de 10, 12 micrococques, et plus. Dans la gélatine il donne des diplocoques, mais aussi des chaînettes de 4, 6 et 8 indi-

vidus. Dans le lait, il forme des chaînes d'individus particulièrement gros, que l'on retrouve dans les préparations faites avec du kéfir ; on voit cependant aussi des diplocoques. Dans les cultures plus âgées les microcoques prennent volontiers une forme allongée. Deux microcoques un peu trop fortement colorés donnent alors souvent l'impression d'un bacille. Les chaînes deviennent aussi plus rares ; celles que l'on trouve encore sont formées de microcoques très gros comme dans le lait ; on voit, en outre, des individus isolés et des diplocoques. On les colore facilement d'après la méthode de Gram et avec les couleurs d'aniline habituelles.

Les expériences sur la résistance du streptocoque *a*, à l'égard de la chaleur et des désinfectants, furent faites de la même manière que pour la levure. Elles donnèrent les résultats suivants :

Les températures de 50 et 55 degrés sont bien supportées pendant 5 minutes. A 60 degrés et au delà, par contre, il fut tué. Il ne supporte pas la dessiccation pendant 4 jours. Il résiste à l'action du sublimé à 1 p. 1000 pendant 1 minute, mais pas pendant 2 minutes ou plus. L'acide phénique, en concentration à 2 1/2 p. 100, le tue déjà en 30 secondes.

Pour déterminer son énergie fermentaire, je l'ai ensemencé dans des ballons contenant 50 centimètres cubes de bouillon chargé de 5 p. 100 de sucre de lait, et j'ai titré l'acidité journellement (phénolphtaléine et solution de soude caustique normale au quart, 1 centimètre cube de cette dernière correspondant à 0,0225 d'acide lactique).

Le tableau suivant indique les résultats :

Après	1 jour	4,5-5	cmc.	=	0,10125	acide lactique
»	2 jours	6	»	=	0,1340	»
»	3 »	6,5	»	=	0,1460	»
»	4 »	8,5	»	=	0,1912	»
»	5 »	»	»	=	»	»
»	6 »	»	»	=	»	»
»	7 »	»	»	=	»	»
»	8 »	»	»	=	»	»

Les ballons contenant 50 centimètres cubes de culture,

il faudrait multiplier ces chiffres par 20 pour les ramener à 1 litre.

J'ai déterminé la production de gaz au moyen de l'appareil de fermentation de Schaffer (*Landw. Jahrbuch der Schweiz.*, VII, p. 72), en notant chaque jour la quantité de gaz produit dans le tube de l'eudiomètre. Pour la description de l'appareil, je renvoie le lecteur à l'ouvrage cité. A 22 degrés, les premières traces de gaz se montrèrent le second jour. Le cinquième jour, il y avait 2 centimètres cubes de gaz ; le sixième jour, 4 centimètres cubes ; le septième jour, 5,5 centimètres cubes ; le huitième jour, 6 centimètres cubes ; le neuvième jour, 8 centimètres cubes ; le dixième jour, 8,5 centimètres cubes ; le treizième jour, 8 3/4 centimètres cubes ; après quoi, la production de gaz s'arrêta. Ce microorganisme est donc un ferment lactique dont la fonction gazogène n'a rien d'anormal, comme c'est le cas par exemple pour certaines bactéries provoquant le boursouflement des fromages, qui peuvent produireen 24 heures jusqu'à 30 centimètres cubes de gaz.

Streptocoque b

Ce second streptocoque, que j'ai régulièrement trouvé dans les kéfirs que j'ai analysés, porte les caractères suivants :

Sur les plaques d'agar ensemencé en surface, âgées de 2 jours et très chargées de colonies, on voit au faible grossissement des taches pâles, finement granulées ; généralemen on observe 2 à 3 points foncés dans chaque colonie. Les colonies bien isolées sont rondes, à bords nettement découpés ; sur les plaques très chargées, les colonies se fondent quelquefois et prennent des formes irrégulières, souvent ovales. A l'œil nu, les colonies sont grisâtres.

Sur les plaques moins chargées, les colonies sont aussi grisâtres à l'œil nu, mais jaune brun au faible grossissement ; les bords, toutefois, restent blanchâtres. Les colonies sont finement granulées et ont des bords nets.

Sur les plaques de gélatine ordinaire, les colonies

restent très petites; elles sont rondes et claires, jaune clair au faible grossissement.

Sur gélatine sucrée, la croissance est meilleure; cependant les colonies restent plus petites que celles du streptocoque *a*. A la surface, elles sont plus foncées, à bords clairs; la granulation est visible partout. Après 3 jours, elles sont bien visibles.

Dans les piqûres, la croissance est, à ce moment, très peu avancée, surtout dans la gélatine ordinaire; dans la gélatine sucrée, la croissance est, dans la suite, un peu meilleure; à la surface de cette dernière, on obtient un gazon blanchâtre.

Dans les plaques de gélatine, les colonies de ces deux streptocoques restent, en général, petites. Celles du streptocoque *a* sont un peu plus grandes; mais, au début, il est difficile de les distinguer. Quand les colonies sont bien développées, la teinte de celles du streptocoque *b* est plus claire que chez le streptocoque *a*. La granulation est aussi plus visible dans les colonies du streptocoque *b*.

Dans le bouillon sucré, le trouble devient apparent à 35 degrés, déjà après 24 heures; après 48 heures, il est très prononcé. Le streptocoque *b* croît donc bien à des températures élevées, ce que ne fait pas le streptocoque *a*. A 22 degrés, le trouble est plus lent à se produire; après 24 heures, on ne voit rien encore; après 2 jours, le trouble est visible.

Dans le bouillon ordinaire, la croissance est très faible. Le streptocoque *b* ne caille pas le lait, bien qu'il y ait production d'acide. Ceci est d'autant plus remarquable que ce microorganisme produit un peu plus d'acide et de gaz que le streptocoque *a*. Pour titrer l'acide et pour mesurer la quantité de gaz produite, j'employai la même méthode que précédemment.

Les tableaux suivants montrent les résultats :

ACIDE PRODUIT

Quantité de solution de soude caustique employée pour la neutralisation

Après	2	jours	4,5	cmc	=	0gr,1012	d'acide lactique
»	3	»	8,5	»	=	0 ,1812	»
»	4	»	10	»	=	0 ,2212	»
»	5	»	»	»	=	»	»
»	6	»	10,5	»	=	0 ,2342	»
»	7	»	»	»	=	»	»
»	8	»	»	»	=	»	»
»	9	»	»	»	=	»	»
»	10-15	»	»	»	=	»	»

Production de gaz

Après	2	jours...............	traces	
»	3	»	4	cmc.
»	4	»	7,5	»
»	5	»	8,6	»
»	6	»	9,5	»
»	7	»	10	»
»	8	»	10,5	»
»	9	»	10 3/4	»
»	10	»	11,5	»
»	13	»	12	»
»	16	»	12	»

Sur pomme de terre, le streptocoque *b*, comme le streptocoque *a*, ne croît pas.

Le streptocoque *b* a également une forme un peu ovale. Toutefois, quand, dans les préparations, les coccus sont très serrés, leur forme devient irrégulière et anguleuse. Dans les cultures sur agar leur diamètre est d'environ 1 μ, un peu moindre dans les cultures sur gélatine. Sur les plaques d'agar et de gélatine, on le voit généralement en groupes et en forme de diplocoques ; çà et là on voit cependant aussi des chaînettes ; dans les cultures par piqûres, ces dernières sont nombreuses. Dans les milieux liquides il se présente en chaînes et sous forme de diplocoques. Dans le lait on voit les chaînes et les diplocoques entourés d'une capsule, quand on ne colore pas la préparation.

Le streptocoque *b* se colore facilement avec les couleurs d'aniline et d'après la méthode de Gram.

A l'égard de la chaleur, il est un peu plus résistant que le streptocoque *a*. Il supporte pendant 5 minutes les températures de 50, 55, 60 degrés. A 55 degrés et 60 degrés toutefois, on constate déjà un retard dans la croissance. A 65 degrés il est tué.

Il supporte la dessiccation pendant 2 jours. Après 3 jours, il y a encore croissance, mais avec du retard.

A l'égard de l'acide phénique, il est aussi peu résistant que le streptocoque *a*. En solution à 2 1/2 p. 100, en effet, ce désinfectant le tue en 30 secondes.

Le sublimé (1 p. 1000) donna d'autres résultats. Dans une première expérience, le streptocoque *b*, exposé à son action, se montra vivant encore après 15 minutes. L'expérience fut renouvelée et prolongée pendant une heure ; de nouveau le streptocoque *b* fut retrouvé vivant. Dans une troisième expérience dans laquelle, comme dans la précédente, on avait mélangé, à parties égales, une culture de bouillon et une solution de sublimé à 2 p. 1000, on ensemença une anse de platine du mélange dans du bouillon sucré après trois quarts d'heure, une heure et 23 heures. Chaque fois l'ensemencement donna une culture normale. Il paraît donc que le streptocoque *b* forme dans le bouillon sucré des produits qui neutralisent l'action du sublimé. Ceci est rendu probable par le résultat d'une quatrième expérience dans laquelle de petits morceaux de papier joseph imbibés de culture furent plongés dans une solution de sublimé à 1 p. 1000 pendant 30 secondes, 1, 2, 5, 15 et 60 minutes, lavés à l'alcool et à l'eau, puis ensemencés dans des ballons de bouillon ; à l'exception d'un seul, tous les ballons ensemencés demeurèrent stériles ; ce qu'il y a de singulier, c'est que le ballon fécondé fut celui qui avait été ensemencé avec le morceau de papier resté 15 minutes dans le sublimé. Il y a donc manifestement des individus plus résistants que d'autres dans les cultures.

Le rôle que joue ce microorganisme dans la fermentation du kéfir est très intéressant. Ainsi que nous l'avons vu, la levure du kéfir n'est pas à même, seule, de faire

fermenter le sucre de lait ; mais, lorsqu'on lui adjoint le streptocoque *b*, elle contribue à cette fermentation, ainsi qu'en font foi les expériences suivantes :

Du bouillon additionné de sucre de lait fut ensemencé dans un appareil de culture à fermentation Schaffer, à titre de contrôle, avec la levure seule ; jamais il ne se produisit de fermentation ; d'autres ballons semblables furent inoculés avec le streptocoque *b* seul et d'autres avec le streptocoque et la levure ; et, dans ces derniers, toujours la fermentation fut beaucoup plus complète que dans les autres. Dans les premiers la fermentation s'arrêtait après 13 jours, et même plus tôt, et la quantité de gaz produit ne s'éleva jamais au-dessus de 12 centimètres cubes, tandis que dans les ballons ensemencés avec les deux microorganismes la quantité de gaz produit fut beaucoup plus considérable, ainsi que le montre le tableau suivant.

Levure et streptocoque b ensemencés ensemble

Après 2 jours	....	traces de gaz
» 3 »	....	3 cmc.
» 4 »	....	4,5 »
» 5 »	....	9,5 »
» 7 »	....	15 »
» 8 »	....	18,5 »
» 9 »	....	21,5 »
» 10 »	....	24 »
» 11 »	....	27 »
» 13 »	....	30,5 »
» 14 »	....	32 »
» 15 »	....	34,5 »
» 16 »	....	36 »
» 17 »	....	38 »
» 18 »	....	39,5 »
» 22 »	....	43,5 »
» 23 »	....	45 »

La levure fait donc ici fermenter de notables quantités de sucre de lait que, seul, le streptocoque *b* n'aurait jamais pu faire fermenter.

Cette expérience fut faite encore d'une autre manière : Un ballon à fermentation fut inoculé avec le streptocoque *b*,

et, lorsque la production de gaz eut cessé, on y ensemença une trace de levure. Le jour suivant, il y avait déjà un commencement de fermentation ; après 2 jours, l'eudiomètre contenait 5,5 centimètres cubes de gaz et, après 4 jours, 16 centimètres cubes. Le streptocoque *b* paraît donc provoquer un dédoublement du sucre de lait qui met le *Sacch. kéfir* à même de le faire fermenter. A titre de contrôle, on ensemençait naturellement aussi dans chaque expérience la levure seule dans du bouillon additionné de sucre de lait; jamais il n'y eut de fermentation.

Bacillus caucasicus

Sur les plaques de gélatine ordinaire, le *Bacillus caucasicus* ne croît pas. Une fois seulement je le trouvai dans une plaque de gélatine tenue à l'abri de l'air (gélatine en tubes à essai recouverte de paraffine et vaseline d'après la méthode de Miquel). D'autres fois, par contre, il n'y avait aucune colonie de ce microorganisme, sans que je sois arrivé à découvrir le motif de ces variations. Peut-être était-il précisément, cette fois, en grande quantité dans le kéfir ensemencé ; ou bien la gélatine employée lui a-t-elle été particulièrement favorable. Je ne l'ai pas non plus vu croître sur les plaques de gélatine additionnée de sucre de lait. Une fois isolé, il croît très bien dans les cultures par piqûre dans l'agar sucré et même dans la gélatine ordinaire, mais, dans ce dernier cas, avec un notable retard. Il y a là certainement un fait d'accommodation au milieu nutritif, tel qu'on en rencontre dans l'isolement et la culture du bacille de la tuberculose, par exemple. Sur les plaques de gélatine sucrée ensemencées avec des cultures pures, j'ai souvent constaté l'absence totale de croissance, d'autres fois l'apparition de colonies microscopiques.

Sur des plaques d'agar en surface, par contre, j'ai fréquemment pu observer le développement de ces colonies. Celles-ci sont petites, plates, grisâtres, paraissant rondes à l'œil nu. Au faible grossissement, elles ne paraissent pas régulièrement rondes et ont souvent des contours irréguliers, avec une teinte blanchâtre et des granulations. Ces

dernières sont produites par l'enchevêtrement des bacilles, ainsi qu'on le voit nettement aux bords d'où émergent des formes bacillaires.

Dans le bouillon ordinaire, je n'ai pas pu constater de croissance, pas même à 35 degrés. Dans le bouillon sucré, la croissance à 22 degrés est lente ; après 3 jours, on ne voit rien encore. A 35 degrés, le développement est plus rapide. La réaction devient acide.

Le lait n'est pas caillé, bien que la réaction devienne un peu acide. Le goût du lait est légèrement acide et astringent, semblable à celui que produit le streptocoque *b*. La production de gaz est modérée. Sur pomme de terre, il n'y a pas de croissance.

Dans le bouillon sucré, ce microorganisme se voit sous la forme de bacilles droits, à bouts arrondis, souvent avec un point brillant aux deux bouts. C'est probablement ce phénomène que Kern a pris pour des spores. Je ne crois toutefois pas que ce soient des spores, surtout en raison du faible degré de résistance des cultures. D'ailleurs, ces points brillants disparaissent quand on colore les préparations, et les bacilles se colorent *in toto*, ce qui ne serait pas le cas s'il s'agissait de spores. La coloration s'obtient facilement avec les couleurs d'aniline usuelles et d'après la méthode de Gram.

La largeur du *Bacillus caucasicus* est d'environ 1 μ, la longueur est en moyenne de 5 à 6 μ. On voit cependant aussi des formes plus longues, qui sont alors courbes. Ce microorganisme est faiblement mobile.

Ainsi que je l'ai déjà dit, sa force de résistance à l'égard des agents extérieurs est très peu considérable.

Il supporte la dessiccation pendant 1 jour ; après 2 jours et plus, par contre, il fut régulièrement tué. Malgré cela, il reste vivant très longtemps dans les grains de kéfir desséchés ; il est probable qu'à l'intérieur de ces grains il est mieux protégé contre l'action de l'air.

Il supporte bien les températures de 45 et 50 degrés pendant 5 minutes. A 55 degrés, par contre, il est tué en 5 minutes.

L'acide phénique à 2 1/2 p. 100 le tue en 30 secondes. Le sublimé (1 p. 1000) le tua dans une expérience après

1, 2 et 60 minutes, mais pas après 5 et 15 minutes. Je ne puis m'expliquer ces résultats contradictoires que par des différences dans la force de résistance des bacilles.

La production d'acide fut mesurée comme précédemment. Voici les résultats obtenus :

Quantité employée de la solution de soude caustique

Après	1 jour	à 35 degrés :	Pas encore de croissance			
»	2 jours	»	»		»	
»	3	»	»	2,5 cmc.	= 0gr,0562	acide lactique
»	4	»	»	4 »	= 0 ,0900	»
»	5	»	»	6,5 »	= 0 ,1462	»
»	6	»	»	» »	= »	»
»	7	»	»	7,5 »	= 0 ,1687	»
»	8	»	»	» »	= »	»
»	9	»	»	2 »	= 0 ,2025	»
»	10	»	»	» »	= »	»
»	11	»	»	» »	= »	»
»	12	»	»	» »	= »	»
»	13	»	»	» »	= »	»

Le tableau suivant indique la production de gaz à 35 et à 22 degrés.

			A 35°	A 22°
Après	1 jour		0	0
»	2 jours		0	»
»	3	»	7 cmc.	»
»	4	»	9 »	»
»	5	»	14 »	»
»	6	»	21,5 »	»
»	7	»	25,5 »	4,5 cmc.
»	8	»	28,5 »	7 »
»	9	»	» »	10 »
»	10	»	» »	13 »
»	11	»	29,5 »	16 »
»	12	»	»	»
»	13	»	»	20,5 »
»	14	»	»	22 »
»	15	»	»	24,5 »
»	16	»	»	25 »

Tels sont, brièvement décrits, les microorganismes que j'ai rencontrés dans le kéfir et que je crois pouvoir consi-

dérer comme la cause de cette fermentation spéciale. J'ai, il est vrai, trouvé parfois d'autres microorganismes encore : ainsi l'*Oïdium lactis*, un bacille ressemblant au *Bacillus Schafferi*, que j'ai isolé de fromages boursouflés et qui provoque une vive fermentation du sucre de lait, diverses levures, etc., mais leur présence n'était pas régulière, et je ne puis les regarder que comme des hôtes fortuits du kéfir. Pour préparer le kéfir, on cuit simplement le lait, et cette cuisson, si elle n'est pas suffisamment prolongée, n'exclut pas la possibilité que d'autres bactéries croissent à côté des vrais ferments du kéfir.

Il restait cependant à fournir la preuve que la fermentation du kéfir est vraiment due à ces microorganismes. Il était certain qu'il devait y avoir une symbiose quelconque, car, ensemencés isolément dans du lait stérilisé (bouteilles fermées hermétiquement comme les bouteilles de bière), aucun d'eux ne produisait de kéfir.

Avec 2 de ces microorganismes pris ensemble, je ne pus jamais non plus produire de kéfir. La levure et le streptocoque *a* ensemencés ensemble font cailler le lait, mais il n'y a pas de fermentation ultérieure. Le streptocoque *b* joint à la levure donne lieu à une production de gaz, produit un goût acide, mais ne caille pas le lait. J'ajouterai que dans mes expériences la production de gaz fut variable, ce qui peut tenir à un affaiblissement de ces organismes dû à la culture sur nos terrains de culture artificiels.

De même, avec la levure et le *Bacillus caucasicus* seuls, je ne pus jamais obtenir de kéfir.

Mais même l'ensemencement simultané des 4 microorganismes me donna, au début, régulièrement des résultats négatifs. Il se produisait une fermentation lactique, le lait se caillait, et tout en restait là. Pensant qu'il fallait d'abord favoriser leur symbiose, je fis des cultures mixtes en inoculant des surfaces d'agar incliné avec des cultures pures de bouillon de ces 4 organismes, ou bien j'étalai sur la surface d'agar un peu de kéfir frais. J'obtins ainsi de belles cultures épaisses, un peu grisâtres, qu'il est facile de cultiver en séries et qui contiennent les 4 microorganismes que j'ai décrits. Cependant, lorsque j'ensemençai ces cul-

tures dans du lait, je vis de nouveau se produire une simple fermentation lactique. Ce fait me semblait assez inexplicable, car le résultat de mes recherches devait me convaincre que je tenais bien les ferments du kéfir. En y réfléchissant, je me rappelai toutefois que l'on se heurte à un fait tout pareil lorsqu'on prépare le kéfir avec des grains de kéfir. En effet, il ne suffit pas de jeter quelques grains de kéfir dans une bouteille de lait pour voir du kéfir se produire; on commence par recouvrir de lait un assez grand nombre de grains, et ce n'est qu'après, quand le lait s'est caillé, qu'on le verse dans des bouteilles fermées dans lesquelles se produit alors la fermentation spéciale du kéfir. D'ailleurs, souvent aussi, quelque peine que l'on se donne, le kéfir ne réussit pas, ce qui montre que cette fermentation n'est pas toujours facile à mettre en train. Je procédai alors d'une manière analogue à celle employée dans la fabrication de kéfir au moyen de grains de kéfir : après qu'une fermentation lactique se fut établie dans les bouteilles que j'avais ensemencées avec mes cultures mixtes, j'ensemençai de ce lait, après l'avoir bien agité, dans de nouvelles bouteilles remplies de lait stérilisé (environ la valeur de quelques cuillerées). Alors, enfin, je vis se produire après ce second passage, un vrai kéfir dans plusieurs bouteilles, qu'il fut facile de cultiver de bouteille en bouteille. Quand, ce qui arriva aussi, il n'y eut de nouveau après le second passage qu'une nouvelle fermentation lactique, je cherchai à arriver au but en faisant un troisième et un quatrième passage. Quelquefois, je réussis, d'autres fois le résultat resta négatif. Je repris aussi les cultures de bouillon et les ensemençai simultanément dans le lait. Au lieu des cultures mixtes sur agar, et inoculées de la première bouteille, après qu'elle se fut caillée, dans une seconde. Maintenant aussi, je vis quelquefois se produire un vrai kéfir, quoique moins facilement, m'a-t-il paru, que quand j'employais des cultures mixtes sur agar. La raison en est peut-être que, dans ces dernières, les 4 microorganismes se trouvent déjà dans les proportions numériques voulues, tandis que lorsqu'on ensemence des quantités égales de culture de bouillon, l'un ou l'autre microorganismes arrive à prendre le dessus.

Je citerai ici quelques exemples choisis dans les procès-verbaux de mes expériences :

25. XI. 1892. — Une culture mixte sur agar est ensemencée dans une bouteille de lait stérilisé bien fermée. Le 8. XII. fermentation lactique. Aucun goût de Kéfir. On ensemence alors un peu du lait de cette première bouteille dans une seconde. Le 14. XII. celle-ci contient un très bon Kéfir.

8. XII. 1892. — Ensemencement d'une culture mixte sur agar dans du lait. Le 14. XII. déjà assez bon Kéfir. On inocule de cette bouteille dans une seconde. Bon Kéfir le 20. XII.

9. I. 1893. — Ensemencement d'une culture mixte sur agar dans du lait. Le 16. I. la bouteille éclate; on inocule une seconde bouteille avec le reste du lait; le 21. I, fermentation lactique; après un second passage, bon Kéfir le 25. I.

18. I. 1893. — Ensemencement d'une culture sur agar en septième génération dans du lait. Le 21. I. fermentation lactique; second passage, Kéfir commençant le 25. I. Réinoculé dans du lait le même jour, celui-ci donne un très bon Kéfir le 27. I.

25. I. 1893. — Ensemencement d'une culture mixte sur agar, en huitième génération dans du lait. Le 28. I. fermentation lactique. Après un second passage dans du lait, bon Kéfir le 2. II.

23. I. 1893. — Ensemencement d'une culture mixte sur gélatine dans du lait. Le 27. I, fermentation lactique. Nouveau passage dans du lait et bon Kéfir le 30. I.

31. I. 1893. — Ensemencement d'une culture sur agar en sixième génération dans du lait. Le 6. II, bon Kéfir, quoique un peu acide. Nouveau passage le 6. II. Le 8. II. cette seconde bouteille, probablement fendue, éclate. Une inoculation d'une anse de platine du reste de ce lait sur de l'agar donne de nouveau une culture mixte des 4 microorganismes.

1. II 1893 }
7. III. 1893 } Après 2 passages bon Kéfir.

28. I. 1893. — Ensemencement d'une culture mixte sur agar dans du lait. Le 31. I. fermentation lactique. Nouveau passage et bon Kéfir le 6. II.

16. III. 1893. — Ensemencement d'une culture mixte sur agar en troisième génération dans du lait. Le 20. I. bon Kéfir, même sans second passage.

29. II. 1893; 4, IV. 1893. — Ensemencement de cultures mixtes sur agar et bon Kéfir après le second passage.

13. IV. 1893. — Ensemencement d'une culture de bouillon de chacun de ces 4 microorganismes dans du lait. Le 18. IV. forte fermentation, mais pas de goût de Kéfir. Second passage dans du lait. Le 25. IV. à peu près le goût du Kéfir, mais pas tout à fait pur. Nouveau passage, bon Kéfir alors. Le 5. V. ce dernier, ino-

culé sur agar, donne une culture mixte des 4 microorganismes.

25. IV. 1893. — Ensemencement des 4 microorganismes (culture de bouillon). Examiné le 5. V. seulement, forte fermentation et goût de Kéfir. Un second passage donne un bon Kéfir.

12. V. 1883. — Ensemencement d'une culture mixte sur agar dans du lait. Le 18. V. fermentation lactique. Après un passage dans une deuxième bouteille, bon Kéfir le 23. V.

20. V. 1893. — Ensemencement des 4 microorganismes (cultures de bouillon) dans du lait. Le 23. V, fermentation lactique. Après 2 passages, bon Kéfir qui, inoculé sur agar, donne une culture mixte des 4 microorganismes.

19. VII. 1893. — Ensemencement des 4 microorganismes dans du lait (les 2 streptocoques avaient été cultivés dans du lait). D'abord fermentation lactique; puis, après un second passage, bon kéfir.

Ces nombreuses expériences démontrent suffisamment que la symbiose des 4 microorganismes décrits peut produire la fermentation du kéfir. Je pourrais, il est vrai, citer aussi nombre d'expériences dans lesquelles, malgré des passages répétés, je n'arrivai qu'à une fermentation lactique. Ceci, toutefois, ne saurait modifier en rien les résultats positifs et, d'ailleurs, un fait analogue se voit dans les établissements vendant du kéfir et dans lesquels on voit souvent la fermentation, que l'on fait marcher de bouteille en bouteille, s'arrêter tout d'un coup. Il faut alors recourir à des grains de kéfir pour préparer un nouveau kéfir ou bien faire venir d'ailleurs un kéfir tout fait pour mettre la fermentation en marche. Il est difficile d'indiquer la cause de ce phénomène ; peut-être y a-t-il stérilisation insuffisante du lait et contamination du kéfir par d'autres bactéries qui, peu à peu, prennent le dessus et empêchent la fermentation. Il m'est, par exemple, parfois arrivé d'obtenir un mauvais kéfir, à goût désagréable, dans lequel je trouvai des bactéries étrangères, bien que le lait eût été chauffé à 115 degrés pendant 1/4 d'heure, ce qui, soit dit en passant, montre la difficulté de bien stériliser le lait ; peut-être aussi la proportion numérique nécessaire entre ces différents microorganismes s'altère-t-elle de manière à trop favoriser une espèce à la place de l'autre. Il est probable aussi qu'avec le temps les cultures modifient leurs propriétés quand elles se font pendant longtemps sur des milieux nutritifs artificiels ; sans cela, je ne pourrais pas m'expliquer

comment des cultures avec lesquelles j'avais pendant longtemps pu faire du kéfir sont, quelquefois, tout d'un coup devenues inactives.

Le rôle le moins élucidé est celui que joue dans cette fermentation le *Bacillus caucasicus*. J'ai, en effet, à l'aide de la levure et des deux streptocoques, pu produire un kéfir que j'arrivais à peine à distinguer de l'autre. Sa présence ne semble donc pas indispensable pour amener la fermentation du kéfir; cependant, comme il se trouve en si grandes quantités dans les grains, on ne peut guère le considérer comme une contamination fortuite. Peut-être prend-il part à la formation des grains de kéfir, opinion que partage M. Beyerinck; dans le kéfir fabriqué avec des cultures je n'ai, toutefois, jamais observé une formation commençante de ces grains, et leur synthèse ne m'a pas réussi. La manière dont ils se sont produits reste donc entourée d'un certain mystère.

Comme nous le voyons, certains points sont encore obscurs dans la fermentation du kéfir. Du reste, je ne crois pas que les 4 microorganismes que j'ai isolés doivent nécessairement être seuls présents dans chaque kéfir, et j'admets parfaitement que l'un ou l'autre puisse être remplacé par une autre espèce microbienne. De même que la fermentation lactique n'est pas toujours produite par le même microorganisme, mais qu'elle peut être l'œuvre de divers microbes, de même il est possible que d'autres bactéries que mon streptocoque *b* soient susceptibles de modifier le sucre de lait de telle sorte qu'il puisse être transformé en alcool par la levure; je ne vois pas non plus de motif qui empêcherait que d'autres ferments lactiques pussent remplacer le streptocoque *a*, dont le rôle, dans la fermentation du kéfir, consiste seulement à faire cailler le lait. Je ne serais donc pas étonné si l'on rencontrait d'autres microorganismes dans un kéfir provenant d'une autre source. La levure et le *Bacillus caucasicus* seront vraisemblablement toujours présents, car on les trouve déjà dans les grains de kéfir; les deux streptocoques, par contre, pourraient être remplacés par d'autres microbes doués des mêmes propriétés. Mais, dans tous les cas, la base du kéfir sera toujours une symbiose de plusieurs microorganismes.

REVUES ET ANALYSES (1)

Dr Robert Behla. — **De l'inoculabilité de la rougeole aux animaux** (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XX, p. 561)

On n'a guère, jusqu'ici, constaté de cas probants de rougeole chez les animaux, et, bien que quelques auteurs croient en avoir observé, il est probable qu'il s'agissait, dans ces cas, d'autres affections (rouget, etc.).

Se basant sur des expériences d'inoculation faites sur des enfants par Franz Mayr en 1852, desquelles il résulterait que le mucus nasal des malades atteints de cette affection transmettrait celle-ci, l'auteur entreprit une série d'expériences sur des animaux; le mucus nasal leur était inoculé au moyen d'un pinceau sur la muqueuse de la bouche et du nez. Chez le lapin, le cobaye, le chat, le chien, la souris et l'agneau, il ne put jamais constater à la suite de ces inoculations de phénomènes se rapprochant de l'éruption cutanée qui se voit dans la rougeole. Chez un jeune porc, au contraire, le résultat fut différent. Le quatrième jour, le nez commença à couler, les yeux devinrent rouges et larmoyants, l'animal perdit l'appétit et accusa de la fièvre. Le huitième jour, le groin se recouvrit de taches rouges, de même les oreilles et la face; les mêmes taches apparurent plus tard sur le ventre, à l'intérieur des pattes de devant et, enfin, sur tout le corps; cette éruption fut suivie de desquamation. Deux autres porcs qui avaient eu du contact avec l'animal malade présentèrent dans la suite une éruption identique.

L'auteur put observer dans le sang de ces animaux des organismes grands de 1/2 - 3 μ, très réfringents, mobiles et de formes changeantes. Il les retrouva dans le mucus nasal et buccal et dans la sécrétion des yeux. M. Behla incline à les ranger parmi les sporozoaires. E. F.

Dr A. Hymans van den Bergh. — **De la manière de se comporter du gonocoque à l'égard de la méthode de Gram** (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XX, p. 785).

La plupart des bactériologistes ont constaté que le gonocoque se décolore quand on emploie la méthode de Gram, quelques-uns

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

cependant (Toutons, Caneva, Kràl, etc.) les ont vus conserver la coloration malgré l'emploi de ce procédé. L'auteur s'est demandé si cette divergence dans les résultats ne tiendrait pas à des différences dans la manière d'appliquer la méthode de Gram. Il s'est par conséquent appliqué à déterminer quelle influence peuvent exercer le degré de concentration du liquide colorant et la longueur du temps employé pour la décoloration à l'alcool.

Une série de préparations fut colorée pendant 30 secondes au violet de gentiane dans de l'eau d'aniline (0,5 centimètre cube d'une solution colorante concentrée dans 10 centimètres cubes d'eau d'aniline contenant 5 parties d'huile d'aniline pour 100 parties d'eau). Les préparations furent alors tenues 1 minute dans la solution de Lugol et décolorées à l'alcool pendant 30 secondes. Dans toutes les préparations, les gonocoques et les noyaux des cellules de pus restèrent colorés; en ne laissant agir l'alcool que pendant 15 à 20 secondes, la coloration fut encore plus marquée. Les préparations laissées dans le bain colorant pendant 1, 2 et 3 minutes (Lugol comme toujours 1 minute), et décolorées pendant 30 secondes, n'accusèrent pas de différence avec celles colorées pendant 30 secondes seulement.

L'auteur colora ensuite pendant 30 secondes et décolora pendant 1 minute. Les résultats furent alors variables: tantôt les gonocoques se décoloraient, tantôt ils restaient colorés, de même que les noyaux. D'habitude, les préparations décolorées pendant plus de 30 secondes, mais pendant moins de 2 minutes, contenaient à certains endroits des gonocoques colorés, tandis qu'à d'autres ils étaient décolorés. Ces différences étaient surtout sensibles quand les préparations n'étaient pas agitées dans l'alcool.

Après coloration pendant 1/2-1 minute et décoloration pendant 2 minutes, il ne restait que de rares gonocoques ayant retenu la matière colorante. Ici les préparations colorées avec des solutions plus concentrées (1 à 1,5 centimètre cube de la solution de violet de gentiane) se montrèrent plus résistantes.

En employant seulement 0,2 centimètre cube de solution colorante et en décolorant 30 secondes à l'alcool, les gonocoques ne se décolorent pas, mais leur coloration est plus faible. En diminuant la proportion d'aniline, la résistance des gonocoques à la décoloration semble aussi diminuer.

Les préparations faites non pas avec du pus, mais avec des cultures pures donnèrent à peu près les mêmes résultats.

Des préparations de staphylocoques, au contraire, restèrent encore colorées même après décoloration prolongée pendant 4 minutes; mais, après ce temps, les staphylocoques commencent aussi à se décolorer.

L'auteur conclut donc de ce qui précède que pour différencier le gonocoque au moyen de la méthode de Gram, il faut colorer

avec une solution suffisamment concentrée et, après avoir laissé la solution de Lugol agir pendant 1 minute, décolorer à l'alcool pendant au moins 2 1/2 minutes. Les gonocoques se décolorent alors sûrement, tandis que les staphylocoques conservent leur couleur. Mais il ne faut pas étendre la décoloration au-delà de 4 minutes, parce que les staphylocoques commenceraient à se décolorer et pourraient alors être pris pour des gonocoques, sur la foi d'un procédé de différenciation mal appliqué.

E. F.

Dr Richard-Reithoffer. — **Des savons comme moyen de désinfection** (*Archiv für Hygiene*, XXVII, p. 350)

Lorsqu'on jette un regard sur la littérature, on voit que les appréciations des différents expérimentateurs sur la valeur du savon comme désinfectant varient énormément entre elles, ce qui tient peut-être en partie à des différences dans la vitalité des cultures mises en expérience et à des différences dans les méthodes. Ainsi, en ensemençant les germes soumis à la désinfection dans du bouillon tenu à 37°, on a beaucoup plus de chance de les voir reprendre vie que lorsqu'on les ensemence dans de la gélatine coulée en plaques.

Koch a, le premier, observé une action bactéricide du savon. Dans ses expériences, une adjonction de savon à 1 : 5.000 gênait déjà notablement la croissance de la bactéridie charbonneuse, tandis qu'une adjonction de 1 : 1.000 l'entravait absolument.

Koch n'arriva pas toutefois à des résultats encourageants. Il constata, il est vrai, que cette dernière concentration empêche, en effet, la croissance de la bactéridie, mais, d'après lui, le savon (savon mou) serait absolument impuissant à l'égard d'autres bactéries. Ainsi, le bacille typhique croîtrait encore dans un milieu additionné de 2 p. 100 de savon. Le bacille cholérique serait même favorisé dans sa croissance par des concentrations de 1 à 5 p. 100. Enfin, même dans une concentration de 10 p. 100, le savon n'empêcherait pas la putréfaction de la viande.

Di Mattei, au contraire, après avoir mélangé des cultures avec des solutions de savon, vit périr le bacille cholérique dans un laps de temps variant entre quelques minutes et 27 heures, tandis que le bacille typhique se montra capable de résister jusqu'à 4 jours, et les staphylocoques jusqu'à 8 jours.

En 1890, Behring fit une série d'expériences avec 40 espèces de savons différents. Le résultat fut que la valeur désinfectante dépend de la teneur du savon en alcali. A une concentration de 1,43 p. 100 dans du bouillon (savon ordinaire), Behring vit périr la bactéridie charbonneuse en 2 heures.

A.-H. Nijland, dans ses expériences sur la désinfection de l'eau employée pour les bains, constata une action des plus énergiques du savon sur le bacille cholérique. Ainsi, le savon vert les tua dans une concentration de 2,4 p. 1000. Un autre savon alcalin qui ne stérilisait pas sûrement les cultures à 2,4 p. 1000 en 15 minutes, les tuait en 1 minute, dans une concentration de 3 p. 1000.

Max Jolles obtint également des résultats des plus favorables. Des solutions de savon de 9 à 10 p. 100 (100 centimètres cubes de la solution ajoutées à 20 centimètres cubes d'une culture de bouillon) tuèrent le vibrion cholérique en 1 à 2 minutes, celles de 4 p. 100 en 10 minutes, et celles de 2 p. 100 en 30 minutes; certaines espèces de savon les tuaient également, dans le même temps, dans une concentration de 1 p. 100. Avec des solutions à 0,6 p. 100 le même résultat fut obtenu en 6 heures.

Plus tard, Jolles reprit ces expériences avec le bacille typhique et le bacille coli. Le premier fut tué en 12 heures par une solution de savon à 1 p. 100 (100 centimètres cubes de la solution mélangés avec 20 centimètres cubes de la culture), en 2 heures par la solution à 30 p. 100, et en 15 minutes par celle à 6 p. 100. Le bacille coli fut également tué, mais il se montra un peu plus résistant.

Ces divergences ont engagé l'auteur à faire, de son côté, une série d'expériences à ce sujet. Il employa 3 savons différents, du savon mou de bonne qualité, un savon aux amandes amères et un savon ordinaire de potasse. La teneur en alcali était de 11 à 15 p. 100. Les différences constatées entre ces différents savons au point de vue bactéricide sont assez peu considérables pour qu'il soit inutile de les rapporter en détail. Disons seulement qu'en général le savon aux amandes amères montra une action un peu plus énergique, ce qui tiendrait, d'après l'auteur, à la présence de la nitrobenzine dont il put constater l'effet bactéricide.

Dans une première expérience, M. Reithoffer ajouta à 10 centimètres cubes de bouillon de peptone stérilisé autant d'une solution stérilisée de savon à 20 p. 100 qu'il en fallait pour avoir un mélange à 0,2, 0,5, 1 et 2 p. 100. Le bouillon était alors inoculé avec une anse d'une culture jeune sur agar de différents vibrions cholériques et tenu à l'étuve à 37 degrés. Ceux-ci se développèrent bien avec 0,2 p. 100 de savon, encore un peu avec 0,5 p. 100, mais plus du tout avec 1 et 2 p. 100, concentration qui amena même leur mort.

Dans une seconde série d'expériences, l'auteur émulsionna des cultures cholériques sur agar dans de l'eau, y ajouta des solutions de savon de concentrations diverses et, après des temps variables, inocula une anse de ce mélange dans du bouillon tenu à 37 degrés. Il en résulta ceci : avec 10 p. 100 de savon les vibrions furent tués en 1/2 minute, avec 5 et 2,5 p. 100 en moins de 5 minutes (la durée minima n'avait pas été déterminée), à 2 p. 100 le savon de potasse et

aux amandes amères les tue en 1 minute. Même à 1 p. 100 on obtient la mort des vibrions de Massaua en 3-5 minutes et même en 1/2 minute, quand il s'agit d'une autre variété cholérique moins résistante que le vibrion de Massaua.

Avec 0,5 p. 100 le vibrion cholérique ordinaire est tué en 5 minutes ; celui de Massaua, par contre, résiste plus de 30 minutes.

Il résulte de ceci qu'il est facile de désinfecter rapidement soit des linges, des vêtements, etc., souillés par des déjections cholériques, en les plongeant dans des solutions de savon, soit les mains.

Pour se faire une idée de la concentration de l'eau de savon quand on se lave les mains, M. Reithoffer mesura les quantités d'eau et de savon généralement employées dans ce but. Il constata qu'en plongeant les mains dans l'eau on y fait adhérer de 4 à 6 centimètres cubes d'eau ; en mesurant alors la quantité de savon employée il calcula que, en prenant comme unité 6 centimètres cubes d'eau, la concentration la moins élevée réalisée quand on se lave les mains serait de 5 p. 100. Souvent elle s'élèverait à 45 p. 100. On peut donc admettre qu'en se lavant soigneusement les mains avec du savon on emploie des concentrations suffisantes pour tuer le vibrion cholérique presque instantanément.

Ces résultats favorables encouragèrent l'auteur à répéter les mêmes expériences avec d'autres bactéries.

A l'égard du bacille typhique, M. Reithoffer constata aussi une action bactéricide du savon, mais il faut une concentration d'au moins 10 p. 100 pour les tuer en 1 minute. Avec une concentration de 5 p. 100 il faut de 3 à 5 minutes. Le bacille coli est, en général, un peu plus résistant.

Les staphylocoques, au contraire, sont très difficiles à tuer. Ils peuvent rester une heure et plus même dans une solution à 18 à 20 p. 100 sans en souffrir.

L'auteur fit encore quelques expériences avec le savon au lysol. Il en résulta qu'une solution de savon lysol est moins active qu'une solution de lysol pur de même teneur. Il en est de même pour les savons l'acide phénique.

On peut donc conclure de ceci que les savons sont doués de propriétés bactéricides assez énergiques, sauf à l'égard des staphylocoques.

E. F.

E. Tourkine. — **Du sérum antituberculeux** (*Wratch*, 1896, n° 30)

Les expériences de l'auteur peuvent être divisées en deux séries : les unes étaient faites dans le but d'immuniser les animaux contre la tuberculose ; les autres consistaient dans le traitement d'animaux tuberculeux par le sérum des animaux immunisés.

Les résultats de ces expériences peuvent être résumés de la façon suivante :

1° Le cheval est l'animal qui convient le mieux pour obtenir du sérum antituberculeux;

2° En injectant au cheval les cultures du bacille de Koch de virulence graduellement croissante, on peut obtenir un sérum possédant à un certain degré des propriétés antituberculeuses ;

3° Cette propriété s'accroît à mesure qu'on injecte à l'animal de nouvelles cultures;

4° L'injection de ce sérum antituberculeux à des cobayes et à des chats est indolore et ne provoque aucune réaction générale;

5° L'effet de cette injection se traduit par la diminution de la fièvre ;

6° Les animaux rendus tuberculeux et traités par le sérum antituberculeux ont une survie plus longue que les animaux témoins non traités. La marche de la tuberculose chez les premiers est simplement entravée, et la mort est due à la dégénérescence graisseuse des parenchymes ;

7° Le traitement par le sérum antituberculeux n'a donc qu'une action d'arrêt et ne fait qu'ajourner l'issue fatale ;

8° L'auteur n'a pu obtenir de sérum antituberculeux chez le chien par injection de tuberculine.

Mme El.

P. Nikanoroff. — De la toxine et de l'antitoxine diphtérique (Note préliminaire, *Wratch*, 1896, n° 31)

Ce travail est consacré à l'étude de l'influence de diverses substances chimiques sur les toxines et antitoxines diphtériques, l'immunisation des animaux à l'aide de la toxine et du sérum. Les expériences avec l'hydratine, l'oxalate et le fluorure de soude ont donné des résultats négatifs. Par contre, si l'on traite l'antitoxine par l'acétate de cuivre, une partie de l'antitoxine est précipitée, mais une autre reste dans le liquide. Si l'on traite, par le même réactif, le mélange de toxine et d'antitoxine, l'antitoxine seule est précipitée. Le précipité ainsi obtenu contient un antitoxique énergique, tandis que le filtratum contient une toxine très active. En se basant sur ces faits l'auteur conclut que, du moins, l'antitoxine *in vitro* ne détruit pas la toxine à laquelle elle n'est que faiblement combinée. Dans l'organisme, l'antitoxine ne semble pas être détruite par la toxine, puisque, au lieu de se neutraliser, ces deux substances deviennent plus actives ; on peut donc par ce procédé obtenir un sérum très actif.

Mme El.

G. Smirnoff. — Préparation artificielle de l'antitoxine diphtérique (*Société des médecins russes de St-Pétersb.*, 1896, 7 mai)

M. Smirnoff a cherché à obtenir l'antitoxine à l'aide de l'électrolyse. Dans le sérum normal, l'électrolyse ne développe pas d'antitoxines diphtériques, mais il n'en est pas de même si l'on soumet à l'électrolyse des toxines diphtériques, et en 1895 l'auteur a publié les résultats de ses recherches à ce sujet; mais les antitoxines obtenues par l'électrolyse des toxines présentaient cet inconvénient qu'on ne pouvait graduer à volonté la force de l'antitoxine, qu'il restait dans le liquide une certaine quantité de toxines et que les propriétés antitoxiques n'étaient pas stables. Voici comment procède aujourd'hui l'auteur pour obvier à ces inconvénients et obtenir une bonne antitoxine. Dans un tube en U, ayant à l'union des deux branches un robinet qui permet de séparer les liquides soumis à l'action des pôles négatifs et positifs, on verse du bouillon-toxine additionné de 1/2 p. 100 de chlorure de sodium; on se sert, pour commencer, d'électrodes en charbon qu'on remplace bientôt par des électrodes en argent, et on ajoute au liquide 1/2 p. 100 de potasse caustique. Comme il se dépose beaucoup de chlorure d'argent sur les électrodes, il faut les changer toutes les heures. Il faut quatre à cinq plaques pour fixer tout le chlore mis en liberté. Si l'on soumet 200 centimètres cubes de toxines, additionnées de 1/2 p. 100 de NaCl, à l'électrolyse pendant 7 heures, on obtient une antitoxine active pour des cobayes inoculés depuis 16 heures. L'antitoxine obtenue par 8 heures d'électrolyse agit contre la diphtérie au début, mais pas dans les stades avancés. Si l'on ajoute 1 p. 100 de NaCl, l'oxydation marche deux fois plus vite, mais alors il faut changer deux fois plus souvent les plaques d'argent, ce qui rend le produit trop cher.

L'antitoxine obtenue par l'électrolyse était active non seulement pour le cobaye, mais encore pour le chien qui est cependant très sensible vis-à-vis les bacilles de Klebs-Lœffler. 3-5 centimètres cubes d'antitoxines suffisaient pour obtenir la guérison de ces animaux (l'auteur ne donne pas leur poids). Ces expériences sur les chiens, animaux de grande taille, sont encourageantes, car elles permettent d'espérer qu'on pourra employer l'antitoxine artificielle aussi chez l'homme; d'autant plus que la quantité d'antitoxine nécessaire n'est pas en rapport avec la taille de l'animal; on n'aurait donc pas, chez l'homme, à recourir à des injections de quantités aussi considérables que pour le sérum antidiphtérique. Quant à savoir si l'antitoxine artificielle est plus avantageuse que la normale, il est encore difficile de le dire. L'antitoxine artificielle est certainement moins active pour la diphtérie au début (6 à 8 heures depuis l'infection) que ne l'est le sérum antidiphtérique, pris en

quantité égale. Mais, pour les stades plus avancés de la maladie, l'antitoxine artificielle est de beaucoup plus puissante, tandis que sur 10 cobayes traités à la même période par le sérum, 1 seul a guéri. D'autre part, l'antitoxine artificielle est d'un prix de revient de beaucoup inférieur à celui du sérum. Quant à l'explication théorique de ces derniers, l'auteur les résume ainsi :

1° L'antitoxine n'est que la toxine oxydée ;

2° Le courant électrique ne sert que d'excitant pour la production de l'antitoxine ;

3° Il agit grâce aux processus chimiques qui se passent pendant la décomposition des sels ;

M. Smirnoff pense appliquer le même procédé à la fabrication d'antitoxines de la tuberculose et du charbon.

Mme El.

Tartakovsky. — **Pseudo-tuberculose bacillaire des cobayes** (*Société des Méd. russes de St-Pétersbourg*, 1896, 7 mars, *in Wratch*, n° 29)

L'auteur a communiqué à la Société les faits intéressants qu'il a observés à l'Institut de Médecine expérimentale, se rapportant à une maladie particulière des cobayes (59 cas), évoluant cliniquement et anatomopathologiquement à la façon de la tuberculose vulgaire. Elle se traduit par l'apathie des animaux, l'élévation thermique, la toux et l'anorexie ; la respiration s'embarrasse de plus en plus, l'animal se cachectise et l'agonie est lente ; parfois la température tombe à la fin au-dessous de la normale. Les phénomènes pulmonaires peuvent faire défaut. A l'autopsie, on trouvait des lésions absolument analogues à celles de la tuberculose ; le foie était farci de tubercules. Dans chaque tubercule on voyait un certain nombre de bâtonnets courts et épais deux fois plus longs que larges, à extrémités arrondies, disposés souvent par deux. Ils se colorent bien par le violet de méthyle, moins par les autres colorants. Leur culture est facile à obtenir par ensemencement des milieux ordinaires ; l'inoculation de ces cultures provoque chez les cobayes sains la même maladie ; on peut également provoquer cette maladie chez les lapins. En terminant, l'auteur émet l'hypothèse que cette pseudo-tuberculose s'observe probablement aussi chez l'homme.

Mme El.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel-de-Ville), *Octobre* 1896

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 40 du 27 sept. au 3 oct. 1896 . . .	830	1.000	12°,8	0^{mm},4	W	9^{km},4	55	39
N° 41 » 4 oct. » 10 » » . . .	2.750	1.250	14,5	50,9	S-W	16,6	57	64
N° 42 » 11 » » 17 » » . . .	1.500	3.170	7,6	58,8	N-W	13,1	58	53
N° 43 » 18 » » 24 » » . . .	1.340	3.500	7,4	14,1	S-W	12,6	56	79
N° 44 » 25 » » 31 » » . . .	3.500	2.160	8,0	25,6	S	15,0	51	80
MOYENNES ET TOTAUX	1.980	2.215	10°,0	149^{mm}8	W	13^{km},3	277	315
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (bronchite aiguë, broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Octobre 1896. Bactéries = 2.665 Moisissures = 3.000 Température = 14°,0

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Octobre 1896. Bactéries = 48 Moisissures = 64 Température = 10°,0

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Octobre* **1896**

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C. — Octobre 1896	Année moyenne	TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge	4.590	1.110	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant.	14.040	4.050	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust . . .	2.910	1.930	»	»
» rue Tiquetonne, 23	700	1.685	»	»
» rue des Fourneaux, 20	2.500	1.685	»	»
» rue Saint-Paul, 34	300	1.685	»	»
» rue Saint-Jacques, 30	6.600	1.685	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	67.500	86.415	11°,2	»
» de la Seine à Ivry	168.125	64.915	11 ,4	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	241.675	100.040	»	Haut. = 2m,15
» de la Seipne au ont de l'Alma	249.000	270.700	»	»
» de la Seine à Argenteuil	650.000	5.557.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	51.250	77.440	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, poste de Garennes.	2.500	»	»	»
» poste d'Herblay.	68.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain de Saint-Maur	84.225	10.170	»	»
» d'Asnières.	2.900	1.485	»	»
6° Eaux d'Égout				
Eaux des collecteurs de Paris	4.450.000	19.885.000	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Novembre* 1896

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 45 du 1er nov. au 7 nov. 1896	4.200	2.000	5°,7	2mm,1	N-E	10km,2	59	78
N° 46 » 8 » » 14 » »	4.700	1.660	5 ,1	32 ,1	var.	10 ,0	52	117
N° 47 » 15 » » 21 » »	1.670	1.340	5 ,4	8 ,6	N-W	9 ,8	48	100
N° 48 » 22 » » 28 » »	5.660	1.700	1 ,2	0 ,1	N-E	11 ,3	45	110
N° » » » » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	4.060	16,75	4°,3	42mm,9	N	10km,3	204	405
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Novembre 1896. Bactéries = 8.000 Moisissures = 24.000 Température = 11°,2

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Novembre 1896. Bactéries = 70 Moisissures = 53 Température = 4°,3

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Novembre* 1896

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Novembre 1896	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge. .	3.375	1.110	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant.	8.860	4.050	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust . . .	4.915	1.930	»	»
» rue Eblé, 14	100	1.685	»	»
» rue Lamotte-Piquet, 10.	500	1.685	»	»
» rue de Vaugirard, 9	8.500	1.685	»	»
» rue Lecomte, 6.	10.400	1.685	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	198.900	86.415	5°,8	»
» de la Seine à Ivry	147.500	64.915	6°,0	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	266.250	100.040	»	Haut. = 3m,10
» de la Seine au pont de l'Alma.	237.500	270.700	»	»
» de la Seine à Argenteuil	550.000	5.557.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	313.750	77.440	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits ferme Fromainville	107.500	»	»	»
» ferme des Grésillons.	50.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain de Saint-Maur	47.350	10.170	»	»
» d'Asnières	1.075	1.485	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	28.250.000	19.880.000	»	»

Diagnostics effectués par le Laboratoire de Bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois de décembre 1896.

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	2	3	5	10	10	20	25
De 2 à 5 ans......		3	8	43	29	72	80
De 5 à 10 ans......	5	5	10	23	39	62	72
De 10 à 15 ans......	1	1	2	4	8	12	14
De 15 à 30 ans......	4	»	4	7	10	17	21
De 30 à 60 ans......	»	»	»	3	2	5	5
De 60 au dessus	»	»	»	1	»	1	1
Age et sexe inconnus.	»	»	»	»	»	5	5
Totaux.........	17	12	29	91	98	194	223

Total des diagnostics....................	223
Angines diphtériques.....................	29
Angines non diphtériques.................	194
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	13 p. 100

Durant le mois de décembre 1896, le Baboratoire de Lactériologie de la Préfecture de la Seine a été appelé à effectuer 223 diagnostics pour angines douteuses. De ce nombre, 29 angines seulement se sont montrées diphtériques, ce qui abaisse la proportion de ces dernières angines à 13 p. 100, taux très voisin de celui qui a été obtenu en août 1896 (12 p. 100).

On peut remarquer, en outre, que le nombre des diagnostics (223) de décembre 1896 est inférieur de moitié au chiffre (456) de diagnostics exécutés en décembre 1895. Pour se rendre compte de cette diminution considérable, il suffit de se reporter aux chiffres des décès notés en ville aux mêmes époques, et l'on voit qu'en décembre 1896 le chiffre des décès par diphtérie a égalé 15, tandis qu'en décembre 1895 ce chiffre était de 30.

Tuberculose

Le Laboratoire a effectué, en outre, 26 diagnostics divers, au nombre desquels 17 concernant des produits soupçonnés tuberculeux, et où le bacille de Koch a été rencontré 6 fois.

Diagnostics effectués par le Laboratoire de Bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois de janvier 1897

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	2	2	4	18	9	27	31
De 2 à 5 ans......	4	6	10	30	29	59	69
De 5 à 10 ans......	4	2	6	18	29	37	53
De 10 à 15 ans......	1	»	1	6	5	11	12
De 15 à 30 ans......	1	1	2	2	13	15	17
De 30 à 60 ans......	»	1	1	3	6	9	10
De 60 au-dessus.....	»	»	»	»	»	»	»
Age et sexe inconnus.	»	»	2	»	»	8	10
Totaux.........	12	12	26	77	91	176	202

Total des diagnostics....................	202
Angines diphtériques.....................	26
Angines non diphtériques.................	176
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	12,9 p. 100

Le nombre des diagnostics effectués pour les angines douteuses en janvier 1897 s'est élevé à 202. En décembre dernier, ce chiffre légèrement supérieur atteignait 223.

La proportion p. 100 des angines diphtériques reste toujours très faible (12,9 p. 100), sans manifester une tendance à s'élever.

Le nombre des décès par diphtérie signalé chez l'habitant est, du reste, très peu élevé : il n'a pas dépassé 6, tandis qu'en janvier 1896 ce nombre de décès était trois fois plus fort.

Sur les 202 diagnostics d'angines douteuses demandés au Laboratoire en janvier 1897, 166 ont été pratiqués pour les médecins de Paris et 36 pour ceux du département de la Seine et de la province.

Tuberculose

Le Laboratoire a été appelé durant le même mois à effectuer 33 autres diagnostics, parmi lesquels 22 pour des produits morbides soupçonnés tuberculeux où le bacille de Koch a été rencontré 12 fois.

PUBLICATIONS RÉCENTES

Dr Kedzior. — Ueber eine thermophile Cladothrix. Sur un cladothrix thermophile (*Archiv für Hygiene*, XXVI, p. 328).

Dr J. Trumpp. — Diphterie-oder Pseudodiphterie-Bacillen im Empyemeiter. Bacilles diphtériques ou pseudo-diphtériques dans le pus de l'empyème (*Centralblatt für Bacteriologie*, première section, XX, p. 721).

Dr Eriberto Aievoli. — Ricerche sui Blastomiceti nei neoplasmi. Recherches sur les blastomycètes dans les néoplasmes (*Centralblatt für Bakteriologie*, première section, XX, p. 745).

A. Stutzer, R. Burri et R. Maul. — Untersuchungen über das Anpassungsvermögen von Bacillus radicicola an einen fremden Nährboden. Recherches sur l'adaptation du *Bacillus radicicola* à des milieux nutritifs étrangers (*Centralblatt für Bakteriologie*, deuxième section, II, p. 665).

Dr G. Ampola et Dr E. Garino. — Ueber die Denitrifikation. Sur la dénitrification (*Centralblatt für Bakteriologie*, deuxième section, p. 670).

Vicente Curci. — Nuevo fermento butyrico. Nouveau ferment butyrique (*Anales del Museo Nacional de Montevideo*, VII, p. 1).

Dr Johannes Seitz. — Streptococcus aggregatus (*Centralblatt für Bakteriologie*, première section, XX, p. 854

Dr Achille Capaldi. — Zur Verwendung des Eidotters als Nährbodenzusatz. De l'emploi du jaune d'œuf comme adjonction aux milieux nutritifs (*Centralblatt für Bakteriologie*, première section, XX, p. 800).

Iwan Schukow. — Ueber den Säureverbrauch der Hefen. De la consommation d'acides par les levures (*Centralblatt für Bakteriologie*, deuxième section, II, p. 601).

Dr J. Wiardi Beckmann. — Ueber den Einfluss des Zusatzes von Chlornatrium auf die Wirkung des Phenols. De l'action de l'adjonction de chlorure de sodium au phénol (*Centralblatt für Bakteriologie*, première section, XX, p. 577).

L.-H. Pammel et Emma Pammel. — A contribution on the gases produced by certain bacteria. Contribution à la connaissance des gaz produits par certaines bactéries (*Centralblatt für Bakteriologie*, deuxième section, II, p. 633).

L'Éditeur-Gérant : C. NAUD.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

RECHERCHES
SUR
L'ACTION BACTÉRICIDE DES TANNINS

PAR LE DOCTEUR G. GOEGG,
Professeur de Technologie à l'École supérieure de Commerce de Genève (1)

INTRODUCTION

Les produits végétaux riches en tannin ont été de tous temps fort utilisés, en raison de la matière tannante qui y est renfermée en plus ou moins grande quantité. Mais, si la grande industrie a conservé la tradition de l'emploi du tannin sous des formes diverses, nous voyons la thérapeutique au contraire chercher, inconsciemment il est vrai, à en atténuer la valeur pour faire appel à un grand nombre de produits chimiques nouveaux dans le but d'obtenir des résultats que le tannin saurait lui donner. Si, d'une part, la science peut s'honorer à bon droit de la découverte de ces derniers, d'autre part ils n'ont pas des assises assez profondes dans la thérapeutique pour revendiquer une place exclusive.

Nous savons depuis longtemps qu'une solution concentrée de tannin est antiseptique par une action directe sur les bactéries dont elle arrête et empêche le développement; mais, selon la provenance du tannin, les résultats obtenus étaient si différents, qu'il nous a paru intéressant de reprendre le sujet et de classer par ordre de mérite les divers tannins dont nous disposons en thérapeutique ou

(1) Travail de l'Institut Bactériologique du Prof. Dr Tavel, à Berne.

que nous pourrions introduire, si les recherches étaient concluantes dans ce sens. Le résumé de ce travail apportera quelque lumière sur cette question, ou servira peut-être de base à une série d'études cliniques qu'il conviendrait d'entreprendre.

CHAPITRE I

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES DU TANNIN

Le tannin, de par ses propriétés, exerce deux actions bien définies :

1° Il est astringent, c'est-à-dire qu'il resserre et absorbe l'humidité des fibres animales ; en un mot, il tanne les tissus ;

2° Il est antiseptique, bactéricide ; à ce double titre il mérite attention.

La littérature sur le tannin, en tant que substance chimique, est très importante ; il ne sera pas superflu toutefois de résumer succinctement à quel corps nous avons affaire.

Le tannin se rattache à la série aromatique ; il peut être considéré comme le résultat de la condensation de deux molécules d'acide gallique avec élimination d'un équivalent d'eau, c'est-à-dire comme un anhydride digallique (H. Schiff).

Le nom de tannin ou d'acide tannique a été donné à un certain nombre de principes immédiats à réaction légèrement acide, solubles dans l'eau, à saveur astringente, qui précipitent l'albumine, la gélatine, les alcalis organiques et les sels métalliques, dont les plus caractéristiques sont ceux qui colorent en bleu noir, en violet, en vert et en gris verdâtre, les sels de fer. Ces principes ont comme propriété principale de se combiner à la peau morte pour donner une substance imputrescible — le cuir.

L'astringence si remarquable du tannin, définie sous le nom d'action styptique, c'est-à-dire la propriété de provoquer une sorte de crispation des tissus, de resserrer les orifices de certains organes comme, par exemple, sur les papilles de la langue, n'est pas spéciale au tannin, plusieurs sels partagent cette propriété, ce sont les sels de fer, de zinc, de plomb, d'alumine, etc.

Tandis qu'Harnack divise les astringents en : I. *Astringents caustiques : a.* précipitant l'albumine sous la forme de combinaison insoluble, tannin, alun, sels métalliques ; *b.* coagulant l'albumine avec action astringente, alcool, phénol ; et en : II. *Astringents non caustiques : a.* substances solubles formant des combinaisons insolubles sur le lieu d'application, eau de chaux donnant naissance à la formation du carbonate de chaux et savon calcaire ; *b.* substances insolubles formant couches protectrices des surfaces qu'elles recouvrent et cela mécaniquement, telles que l'oxyde de zinc et le sous-nitrate de bismuth ; nous *aimerions mieux*, comme le propose Soulier (1), la division naturelle des astringents en : 1° tannin et acide gallique ; 2° drogues végétales renfermant du tannin ; 3° résines, essences, etc. ; 4° astringents métalliques.

Nous agrandirions volontiers la liste N° 1, en y introduisant les acides tanniques proprement dits de plusieurs végétaux qui, tout comme le tannin officinal et l'acide gallique, mériteraient d'avoir une place beaucoup plus marquée dans la nomenclature des tannins, comme nous le verrons plus loin.

Wagner a séparé les tannins en deux classes : le tannin pathologique et le tannin physiologique ; il est, sur ce point, en opposition avec plusieurs chimistes ; nous conserverons cette division : elle a sa valeur.

Le *tannin pathologique*, ou tannin officinal, se rencontre dans les tissus pathologiques des végétaux, conséquences de piqûres d'insectes sur les genres Quercus et Rhus ; c'est cette piqûre provoquée par la femelle d'un Cynips qui donne la Noix de Galle, production des Quercus infectoria,

---

(1) *Traité de Thérapeutique et de Pharmacologie*, 1891, tome II, pages 45-50.

Q. cervis, Q. austrica, Q. ilex. Les galles de Chine, qui fournissent la matière tannante la plus riche en tannin, sont une production provoquée par l'Aphis Chinensis sur plusieurs espèces de Sumacs dont les principaux : le Rhus Javanica, le Rhus Smialata, etc., donnent ce même tannin.

Le *tannin physiologique,* comme nous le verrons, ne se dédouble pas par la fermentation en acide gallique comme son isomère et ne fournit pas, par la distillation, de l'acide pyrogallique, mais de l'acide oxyphénique; il constitue la vraie matière tannante, il est seul employé dans le tannage proprement dit, se trouvant à l'état normal dans les plantes et surtout dans des végétaux dont l'abondance peut donner lieu à un marché considérable.

On sépare les acides tanniques en trois groupes quant à leur constitution intime :

1° Dans le premier groupe on comprend les acides tanniques qui n'ont pas de fonctions de glucosides, c'est-à-dire ne se transformant pas en glucose et acide gallique par l'ébullition avec des acides étendus, comme les acides catéchutannique, ratanhiatannique, etc;

2° Dans le second groupe sont compris les acides tanniques à fonction glucoside, fournissant par dédoublement, en présence des acides étendus, du glucose et des composés cristallisables, tels que l'acide gallotannique, ellagotannique, etc. (Wurtz, à ce sujet, pense que ces tannins sont des combinaisons de dextrine et de gomme avec un tannin unique, ne donnant du glucose que secondairement par la transformation de la dextrine sous l'influence des acides étendus);

3° Enfin, le troisième groupe renferme les acides qui fournissent par dédoublement des produits amorphes, comme l'acide quercitannique, etc.

Mais nous devons ajouter que ces classifications diverses, ci-dessus indiquées, n'offrent, au point de vue qui nous a occupé, aucune différence; leurs propriétés sont identiques et, quant à moi, je pencherais pour accorder au tannin physiologique une attention beaucoup plus marquée que celle qu'on lui a accordée jusqu'à ce jour, pour attribuer au tannin pathologique proprement dit une importance plutôt

réduite en tant qu'efficacité bien entendu, proportionnelle à celle de ses congénères. Nous appuyons également sur ce fait que les matières combinées avec ces divers tannins, et que l'on ne peut séparer physiquement ou chimiquement, donnent sans doute les propriétés à chaque tannin, comme nous avons pu nous en convaincre.

CHAPITRE II

OBSERVATIONS SUR QUELQUES VÉGÉTAUX RENFERMANT DU TANNIN ET UTILISÉS EN MÉDECINE ET DANS L'INDUSTRIE

La thérapeutique fait appel à plusieurs produits qui n'ont d'action que grâce à la proportion plus ou moins grande de tannin qu'ils renferment ; pour n'en citer que les principaux, nous indiquerons les Cachous, les Kinos, le Ratanhia, dont nous donnons ci-après, à titre de mémoire, quelques détails sur l'origine, etc.

a. Cachou, *Terre du Japon*, *cachou de Pégu* ou *Caschutlie*, est un extrait obtenu en faisant bouillir dans de l'eau le bois ou les fruits d'*aréquiers* et *acacias*. Le *cachou brun rougeâtre du Bengale* provient des sucs extraits de la partie interne de l'arbre *Acacia Catechu* (Légumineuses). Le *cachou brun de Bombay* est le suc concentré extrait des fruits du *palmier aréquier*, *Areca catechu*. Ces deux arbres se rencontrent aux Indes orientales, dans la province de Bahar, dans le Mysore, à Pégu, Suratte, Malabar.

D'après Davy, le cachou brun du Bengale renfermerait 54,5 p. 100 de tannin ; Renard en accuse 38,2 p. 100 ; Villon, 48 p. 100. Celui de Bombay en renfermerait tout autant, sinon même davantage.

Depuis un temps immémorial le cachou était employé en Orient dans la médecine, la teinturerie, le tannage.

b. Les *Kinos* sont des sucs végétaux découlant de fissures naturelles ou produites artificiellement par incisions faites dans l'écorce de plusieurs arbres qui, pour la plupart, appartiennent à la famille des légumineuses. Parmi les arbres, arbrisseaux et arbustes qui fournissent les kinos, citons le *Pterocarpus Erina-*

ceus de Lamarck croissant en Afrique, les *Butea frondosa* et *superba* de Roxburgh qui, tous les deux, habitent le Doab septentrional indien. Le *Pterocarpus Marsupium* de Roxburgh, kino de l'Inde, est un arbre originaire de la côte de Malabar. Les meilleurs kinos ont cette origine; puis, il y en a d'autres dans le commerce: Guibourt (1) cite 17 sortes de kinos, provenant de la Colombie, du Brésil, du Mexique, qui sont aussi des sucs desséchés provenant du *Rhizophora mangle;* ils sont moins estimés. Tous les kinos, dont la couleur varie du rouge au brun très foncé, sont friables, solubles en partie dans l'eau et totalement dans l'alcool. Ils renferment de 45 à 55 p. 100 de tannin. Le travail le plus important sur les divers kinos, au point de vue chimique, est dû à Bergholz (2).

c. Le ratanhia est une racine fournie par le *krameria triandra* de la famille des polygalées, qui croît dans les lieux arides et sablonneux du Pérou et particulièrement dans la province de Huanuco. La matière active du ratanhia est soluble dans l'eau et l'alcool, l'écorce de la racine à elle seule donne un tiers de son poids d'extrait. Cet extrait qui constitue un médicament qui, jadis était important, est un astringent puissant employé avec succès dans la diarrhée chronique, les écoulements muqueux, etc. C'est aussi un dentifrice, dont les peuplades péruviennes se servent, de temps immémorial, pour la conservation des dents. La valeur du ratanhia est due à son tannin spécial. [Cotton (3) est l'auteur qui donne sur cette plante les renseignements les plus complets.]

Dans l'industrie, en Europe et surtout dans l'Europe occidentale, c'est le tannin de l'écorce de chêne (acide quercitannique) qui, de temps immémorial, entre en contact avec la peau pour produire le cuir. Le secret de l'embaumement chez les Égyptiens reposait précisément sur l'emploi de matières tannantes combinées avec des essences, baumes, etc. Depuis quelques années cependant, l'industrie de la tannerie semble vouloir abandonner ses vieilles méthodes pour adopter l'emploi des extraits végétaux riches en acide tannique, et cela concurremment avec celui des écorces de chêne. L'industriel qui se met au courant des nouveaux procédés, en usage dans sa partie, aura économie de temps et de main-d'œuvre en employant

(1) *Histoire naturelle des drogues simples.* Edition 6e, tome III, page 425.
(2) Bergholz, *Kenntniss der Kinogerbsaure.* Dorpat, 1884.
(3) Cotton, *Étude comparée sur le genre Krameria.* Thèse Paris, 1868.

les extraits complets; il sait qu'il abrège de beaucoup la durée de transformation de la peau en cuir, sans trop nuire à la qualité. Le choix de la matière première à employer est, en outre, considérable et, tandis que jadis certaines contrées seules avaient pour ainsi dire le monopole de l'emploi de telle ou telle substance, nous voyons actuellement ces mêmes produits envahir le marché, s'imposer d'eux-mêmes par la sûreté, la constance de leur action.

Tandis que jadis le bois de Quebracho n'était employé que le long des rives du Parana dans la République Argentine, que les gousses des « dividivi » ne franchissaient pas les frontières du Sénégal, du Guatemala, que les kinos, le cachou, le gambir, n'étaient utilisés en grand qu'au Tonkin, dans l'Inde, en Chine et au Japon, etc., etc., nous voyons aujourd'hui que ces matières riches en tannin sont d'un usage courant dans nos pays. Et encore, l'industriel fera-t-il une distinction entre les produits qui sont mis à sa portée, car il sait que, selon l'âge du végétal, le sol dans lequel ses racines se sont étendues, le climat sous lequel il a grandi, le terrain sec ou humide où la plante s'est développée, sont autant de facteurs qui ont exercé leur influence sur la richesse quantitative du tannin contenu dans ses racines, son bois, son écorce, ses feuilles et son fruit. C'est ce qui a fait prédominer logiquement l'emploi des extraits tannants. Parmi ceux-ci nous voyons encore une différence dans la puissance tannante, conclusion facile à en tirer : elle provient du tannin qui, selon le végétal et selon ses proportions, aura une action variable.

Les variétés de tannins, en effet, sont très nombreuses, il nous suffira d'indiquer ceux qui, en médecine et dans l'industrie, jouent un certain rôle.

Acide	gallotannique	ou	tannin	de la noix de galle.
»	quercitannique	»	»	de l'écorce de chêne.
»	rhusitannique	»	»	du sumac.
»	catéchutannique	»	»	du cachou.
»	kinotannique	»	»	du kino.
»	cafétannique	»	»	du café.

Acide	ratanhiatannique	ou tannin	du ratanhia.
»	tannocortépinique	» »	du sapin.
»	salicitannique	» »	du peuplier.
»	aspidospertannique	» »	du québracho.
»	castaneotannique	» »	du châtaignier, etc., etc.

Après avoir comparé la puissanee tannante des principales substances employées dans l'industrie du tannage, il nous a paru utile de choisir parmi elles celle qui depuis quelques années a été très appréciée pour certaines spécialités, soit le Quebracho, qui est un végétal éminemment tannifère. On rencontre l'arbre Quebracho (*Aspidospermum quebracho*, appartenant, selon certains auteurs, à la famille des térébenthacées et, suivant d'autres, à celles des apocynées) à peu près dans tous les États orientaux de l'Amérique méridionale, l'Uruguay, le Paraguay, la République Argentine et le Brésil, d'où il est exporté vers l'Europe par les ports de Buenos-Ayres, Montevideo, Rio-Janeiro, Bahia et Pernambuco. Il existe deux variétés de quebracho : « le colorado », bois rougeâtre ; « le blanco », d'un aspect blanc jaunâtre. Le bois de quebracho colorado renferme de 16 à 22 p. 100 de tannin, dénommé acide aspidospertannique, tandis que le quebracho blanco n'en renferme que 10 à 11 p. 100, soit un bon tiers en moins. Arnaudon (1), qui a fait une étude spéciale des bois tannants, a constaté que les ports d'Europe reçoivent le bois de quebracho sous diverses formes : en grosses et longues bûches, dites rondins ; en bûches équarries, et quelquefois en pièces équarries perforées, qui ne sont autres que de vieilles traverses de chemin de fer rebutées. Les bois rondins sont rarement exempts de perforations : elles proviennent d'insectes hyménoptères se plaisant dans le quebracho, saturé cependant d'un tannin qui devrait les en éloigner. Le quebracho est à la fois un bois tannant et un bois tinctorial; comme colorant, son rendement est, en effet, plus grand que le rendement colorant du cachou, et, comme l'affirme le chimiste Rehm, l'action de sa matière

(1) ARNAUDON, *Étude sur les bois tannants* (*Moniteur scientifique*, 1890 et 1894).

colorante, ainsi que sa richesse en tannin, sont plus considérables que dans le cachou.

Donc, en moyenne, le quebracho colorado rend 18p. 100 de tannin, soit quatre fois plus que le bois de chêne, trois fois plus que le bois de châtaignier et autant que les sumacs de Sicile et d'Amérique. Il a la propriété appréciable de tanner rapidement, de pénétrer la peau plus promptement que le tannin du chêne ou d'autres végétaux. Nous ne pouvons entrer dans des détails techniques de l'emploi du quebracho, ce qui nous porterait trop loin. Introduit en France depuis 1873, son emploi s'est rapidement popularisé. Toutefois, il le serait davantage encore s'il n'était sujet à des oscillations de prix très fréquentes.

Le quebracho, entre toutes les matières tannantes que nous avons étudiées, nous a donc paru le plus favorable à nos expériences, et nous ne pouvons que nous féliciter de l'avoir choisi.

Tout naturellement, nous avons pris les matières tannantes d'un double emploi, thérapeutique et industriel : ce sont les kinos, cachous ; et, comme nous avions en mémoire les expériences de Heim (1) sur le café, nous avons relu son travail qui nous a d'autant plus intéressé que nous avions remarqué également que les moisissures ne se fixaient pas sur une infusion de café. Soulier attribue cet arrêt dans le développement des infusoires à la présence du caféone. — Heim l'attribue au tannin du café, et la conclusion de notre travail confirme cette observation. Nous ne sommes pas contraire à l'idée que l'infusion de café soit plus ou moins antiseptique, puisqu'elle renferme également, par suite de la torréfaction du café, de l'hydroquinone, de la méthylamine, du pyrrol et un peu d'acétone qui, séparément ou combinés, ont aussi leur action. Wallizeck (2), après avoir constaté l'action bactéricide du tannin officinal, émet l'avis que l'infusion de café, d'un usage si répandu, pourrait avoir une action désinfectante sur le canal intestinal ; nous ne pouvons dire s'il a fait des recherches dans

(1) Dr Heim, *De l'action bactéricide du café grillé* (*Münchener Wochenschrift*, 1887, nos 16 et 17).

(2) Wallizeck, *Essais sur les propriétés bactéricides du tannin officinal* (*Centralblatt für Bakteriol. und Parasitenk.*, XV, Band 1874, n° 28, pages 892 et 893).

ce sens, néanmoins son observation a été pour une bonne partie la cause déterminante du choix de l'acide cafétannique, conjointement avec les autres tannins.

Enfin, nous avons pris également l'acide gallique pour nous rendre compte de son action bactéricide; puisque, selon Rabuteau, Mitscherlich, Schroff, le tannin se transformerait dans l'organisme en acide gallique, il était tout indiqué de connaître la différence d'action de l'un comme de l'autre dans ce cas spécial; je dois ajouter cependant que Lewin conteste cette transformation du tannin en acide gallique, en totalité du moins. A ce propos il ne sera pas sans intérêt de résumer les recherches de Van Tieghem sur la fermentation gallique :

1° Le tannin ne se transforme pas en acide gallique à l'abri de l'air;

2° Le tannin ne se transforme pas au seul contact de l'air;

3° Pour que le tannin se transforme, il suffit qu'un mycélium de mucédinée se développe dans sa solution;

4° Sous l'influence de la vie et du développement de ce mycélium, le tannin se dédouble en acide gallique et glucose;

5° Pour que le dédoublement du tannin s'opère, il faut que la plante vive et se développe dans l'intérieur de la solution. Le poids du mycélium est de 2 p. 1000 environ du poids du tannin transformé. S'il est à la surface, il agit autrement : il brûle directement le tannin en dégageant de l'acide carbonique. Il ne se dédouble du tannin que par l'action de celui qui plonge; le glucose est aussi brûlé par celui de la surface;

6° C'est par le fait même de sa vie et de son développement que le mycélium dédouble le tannin et non par l'action des principes solubles sécrétés par lui et capables d'agir en dehors de l'organisme.

L'Aspergillus niger est la mucédinée qui joue le rôle principal dans la transformation du tannin en acide gallique. Wallizeck signale qu'il s'est formé dans sa solution de tannin au 10 p. 100 des moisissures nombreuses; cette moisissure ne pouvait être autre que le mycélium de l'Aspergillus sous forme de fibres ténues, tubuleuses, enchevêtrées

les unes sur les autres parallèlement, à la surface du liquide, comme nous avons eu maintes fois l'occasion de le constater. Ce végétal, du reste, prend des proportions énormes par rapport au milieu nutritif dans lequel il se trouve. Villon (1) cite que l'on peut recueillir 25 grammes d'Aspergillus sur 80 grammes d'éléments. Le tannin une fois dédoublé, le mycélium continue à se développer au fond du vase, il vit aux dépens du glucose qui diminue progressivement. Quand il a disparu, l'acide gallique, non attaqué jusque-là, disparaît à son tour.

Le Penicillium glaucum, l'Aspergillus glaucus et quelques autres genres de la tribu des aspergillées, comme les Alternaria, les Cladrotichum, les Septomena et les Trimmatostroma dédoublent le tannin par fermentation. Le grand ennemi du tanneur est le mycélium du Penicillium glaucum ; ce dernier, n'étant plus en développement, absorbe le tannin et se tanne. Müntz prétend que ce mycélium prend 66 p. 100 de son poids de tannin.

Fait à rapporter, c'est que, tandis que les solutions de tannin officinal favorisent le développement des moisissures, Sucksdorff a eu l'occasion de démontrer que les infusions de café pouvaient rester exposées à l'air sans se couvrir de moisissures ; notre travail confirmera, en partie du moins, cette observation.

Nous avons toujours eu soin, pour éviter la production de moisissures, de stériliser nos solutions titrées et, de par ce fait, avons conservé des mois nos préparations complètement intactes.

---

(1) A.-M. Villon, *Traité de la fabrication des cuirs*, 1889.

CHAPITRE III

PRÉPARATION DES ACIDES TANNIQUES

MM. Schroeder et Bartel (1), parmi les techniciens qui se sont occupés de la fabrication des extraits tannants, ont étudié les conditions dans lesquelles on arrive à extraire, des matières tannantes les plus usitées, le maximum de substance tannante ; leur procédé opératoire nous a donné les meilleurs résultats et leurs observations ont été pleinement confirmées.

Un poids de 10 à 30 grammes de la matière sèche finement pulvérisée a été épuisé pendant 2 heures par 1 litre d'eau en ébullition, et cela dans un appareil à extraction. Après filtrage et expression, on procède à une seconde extraction, en maintenant l'ébullition pendant 48 heures; puis à une troisième extraction, toujours avec 1 litre d'eau et dans le même espace de temps. Or, il est à constater qu'on arrive à enlever en peu d'heures à l'ébullition la plus grande partie des substances tannantes. Les extractions ultérieures n'enlèvent plus au résidu que des traces de tannin. Par une ébullition prolongée, les matières extractives primitivement insolubles deviennent solubles, et plus l'ébullition est prolongée, plus l'eau se charge de matières non tannantes. Le tableau ci-dessous donne un aperçu précis de la différence qui existe entre une extraction de 98 heures et une extraction de 6 heures seulement, et cela au point de vue du total des substances non tannantes entrées en dissolution après 2 heures et au pour 100.

	Après 6 heures	Après 98 heures
Pour l'écorce de chêne........	109	243
» » de pin..........	112	228
» les valonées.............	102	206
» les myrobolans..........	101	136
» le sumac................	103	165
» le quebracho............	103	268

(1) MM. Schroeder et Bartel, *Extraits tannants* (*Dingler's Polyt.*, I, 1894, p. 259).

Pour la préparation de nos produits, ce mode opératoire n'a pas été suivi par nous, préférant avoir recours aux procédés plutôt pharmacologiques pour diminuer la proportion de matières extractives, tout en obtenant le maximum du principe tannique.

Après avoir pesé le pour et le contre des procédés de Pelouze, de Dominé, de Liebig, nous avons appliqué, pour la fabrication de l'acide aspidospertannique, qui ne se rouve pas dans le commerce, la méthode proposée par Villon, en 1886, à l'Académie des Sciences (1) :

Digestion de la matière tannante ou de l'extrait tannant avec de l'alcool à 90 degrés, dans un appareil à reflux, et cela pendant une heure à l'ébullition. Ce titre élevé d'alcool est destiné à prévenir la dissolution de substances albuminoïdes qui gêneraient subséquemment.

La liqueur alcoolique est décantée et évaporée au B. M. dans une cornue, jusqu'à consistance sirupeuse, pour recueillir l'alcool et ensuite à sec dans une capsule. Le résidu sec est repris par l'éther acétique à 50 degrés de température ; la liqueur obtenue est filtrée et étendue de la moitié de son volume d'eau, puis précipitée par l'acétate de zinc ammoniacal, préparé en faisant dissoudre de l'acétate de zinc dans de l'ammoniaque dilué de la moitié de son volume d'eau.

L'acétate de zinc précipite le tannin à l'état de tannate de zinc ; tous les autres corps, tels que l'acide gallique, matières albuminoïdes, principes pectiques, etc., restent dissous. Le précipité de tannate de zinc, recueilli sur un filtre, est lavé à l'eau ammoniacale, puis à l'eau distillée. Il est mis ensuite en suspension dans l'eau à laquelle on ajoute une solution d'acide oxalique en quantité suffisante pour précipiter tout le zinc contenu dans le précipité, et on le porte vers le voisinage de l'ébullition en agitant. Le zinc passe à l'état d'oxalate insoluble, et le tannin se dissout dans le liquide.

La liqueur est évaporée après filtration jusqu'à consis-

(1) Qu'il nous soit permis, puisque nous prononçons ce nom, de rendre un hommage respectueux à ce jeune ingénieur et savant français enlevé, en 1895, à la fleur de l'âge, et qui a publié, à peine âgé de 28 ans, un des documents les plus importants qui aient paru sur l'industrie des cuirs. Que sa famille veuille bien accepter l'expression de nos sentiments affectueux.

tance de sirop au B. M. à 50 ou 60 degrés, en s'aidant du vide, puis en présence de l'acide sulfurique. Pour obtenir le tannin complètement pur, le résidu de l'évaporation est repris par de l'éther acétique qui est évaporé à l'étuve à température modérée.

La maison Haaf, à Berne, qui a eu l'obligeance de nous préparer l'acide ratanhiatannique, a suivi le procédé classique à l'acétate de plomb et décomposition du tannate par l'hydrogène sulfuré. Les autres acides nous ont été fournis par les maisons E. Merck, à Darmstadt, et Th. Schuchardt, à Görlitz.

Tous ces produits varient d'aspect selon la matière première employée : l'acide cafétannique est d'un jaune fauve ; l'acide catéchutannique, brun-clair ; l'acide aspidospertannique, brun rouge, etc. Seul l'acide cafétannique accuse une légère odeur de caféone, les autres sont inodores.

CHAPITRE IV

ACTION BACTÉRICIDE DES TANNINS

Les travaux sur l'action bactéricide du tannin sont fort peu nombreux, à notre connaissance du moins. La littérature nous a signalé seulement ceux de Koch, de MM. Raymond et Arthaud (1) et, plus récemment, Wallizeck. Leurs essais ont été faits avec le tannin, en tant qu' « acide gallotannique ». Koch, en 1881, cite avoir observé qu'une solution de 5 p. 100 du tannin ne tue pas, au bout de 24 heures, les spores de charbon (Bac. Anthracis) ; en cela nous sommes d'accord avec lui, pour le tannin officinal, mais nous avons eu, par contre, des résultats probants avec des solutions d'acide aspidospertannique en solution de 5 et 10 p. 100, au bout de 4 heures et 24 heures.

MM. Raymond et Arthaud, dans leur *Note sur l'action*

(1) MM. Raymond et Arthaud, *Note sur l'action thérapeutique du tannin dans le traitement de la tuberculose* (*Soc. biolog.*, nov. 1886, pages 489-490).

thérapeutique du tannin dans le traitement de la tuberculose, s'expriment ainsi :

« Nos recherches ont surtout porté, dans le cours de « l'année 1886, sur les substances que nous jugions aptes « à fournir un mode de traitement des affections tubercu- « leuses. Laissant de côté les recherches entreprises sur « diverses substances qui nous ont donné des résultats « négatifs ou encore incomplets, nous ne signalerons que « les faits positifs que nous avons pu observer. Nous avons « surtout obtenu de bons effets de 3 substances : 1° le « sulfure de carbone ; 2° l'iodoforme ; 3° le *tannin*. Notre « procédé d'étude expérimentale consiste à soumettre « des lapins à l'action des substances à l'étude, et à cher- « cher au bout d'un mois environ si les lapins sont encore « en état de ressentir les effets de l'inoculation tuberculeuse. « Nous n'avons obtenu de résultats bien nets ni avec l'iodo- « forme, ni avec le sulfure de carbone, ce qui tient peut-être au « mode d'introduction de ces substances dans l'organisme, « mais nous avons pu constater avec le tannin des effets « assez remarquables. En effet, 6 lapins ayant été sou- « mis au régime tannique à la dose de 0,50 à 1 gramme « pendant un mois, malgré deux inoculations successives « pratiquées, l'une avec de la substance pulmonaire d'un « cobaye mort de tuberculose aiguë, l'autre avec des tuber- « cules miliaires d'un malade de Saint-Antoine, nous « n'avons pas pu voir se développer depuis 6 mois nulle « trace d'infection, tandis que 3 lapins témoins ont suc- « combé aux suites de l'inoculation. Ces expériences ont « été le point de départ de tentatives thérapeutiques qui « ont été couronnées de succès. Nous avons observé sur « plus de 50 malades, soit de la clientèle hospitalière, « soit de la pratique civile, que le tannin, soit en cachets, « soit en forme de vins médicamenteux à la dose de 2 à « 4 grammes par jour, était bien toléré et déterminait une « amélioration tellement sensible des symptômes, qu'en une « quinzaine de jours la moitié au moins des malades ont pré- « senté une augmentation de poids qui se poursuit durant « toute la durée du traitement. Dans des cas de tubercu- « lose aiguë, nous avons vu, soit chez l'enfant, soit chez « l'adulte, les symptômes s'amender, et en 8 ou 15 jours la

« maladie rétrocéder, et cela chez des malades pour lesquels « un pronostic fatal avait été porté. » Ces Messieurs concluent ainsi :

« 1° Que le tannin est supérieur dans le traitement de la « tuberculose au sulfure de carbone ou à l'iodoforme ;

« 2° Que les animaux soumis à ce régime pendant un « mois présentent une résistance plus grande à l'action « du virus tuberculeux. »

Wallizeck dans son travail donne les résultats suivants, qui concordent absolument avec nos observations ; le tableau ci-contre parlera de lui-même.

DIE BAKTERICIDEN EIGENSCHAFTEN DER GERBSAÜRE
(Tannin der Apotheken.)

Desinficiens : Tannin (der Pharmacopöen).

I. Versuchsobjekt : *Bacterium coli commune*, 12-13 juli 1893.

Aufschwemmung aus einer Agarreinkultur.

Kontroll-versuch	Konzentration der Lösung in Proz.	1 Minute	5 Minuten	30 Minuten	2 Stunden	24 Stunden
Ueber 10.000 Kolonien.	1/2	12.000	110	—	—	—
	1	8.700	230	100	—	—
	2	570	60	—	—	—
	5	70	—	—	—	—
	10	25	70	—	—	—

II. *Bacillus anthracis* mit Sporen, 18-19 juli 1893.

Aufschwemmung aus einer Agarreinkultur.

Kontroll-versuch	Konzentration der Lösung in Proz.	1 Minute	5 Minuten	30 Minuten	2 Stunden	24 Stunden
Gegen 1.000 Kolonien	1/2	+ V	+ V	+ V	+ V	+ V
	1	+ V	+ V	+ V	+ V	140
	2	+ V	+ V	+ V	+ V	100
	5	+ V	+ V	+ V	+ V	7
	10	+ V	+ V	+ V	+ V	25

III. *Staphylococcus aureus* (aus Osteomyelitis), 28-29 juli 189.

Aufschwemmung aus einer Agarreinkultur.

Kontroll-versuch	Konzentration der Lösung in Proz.	1 minute	5 minuten	30 minuten	2 stunden	24 stunden
Gegen 30.000 Kolonien	1/2	660	160	20	—	—
	1	200	3.000	76	—	—
	2	210	52	—	—	—
	5	200	—	—	—	—
	10	310	90	—	—	—

La lettre V indique que la liquéfaction rapide de la masse gélatineuse n'a pas permis de compter le nombre des colonies.

Le Bacterium coli au bout de 2 heures est détruit par une solution d'acide tannique à 1/2 p. 100 ; les colonies du Bacillus Anthracis considérablement réduites avec des solutions à titres divers dans l'espace de 24 heures ; et le Staphylococcus aureus n'a pas résisté déjà après 30 minutes avec du tannin depuis 2 p. 100.

Le tannin, par ce qui vient d'être dit, est donc nettement bactéricide et confirme en tous points le remarquable travail sur les antiseptiques de MM. Rottenstein et Bourcart (1). Qu'il nous soit pardonné d'extraire de cette thèse ce qui peut, au point de vue chimique, nous donner la clef de l'action du tannin. MM. Rottenstein et Bourcart classent en trois grands groupes les antiseptiques : 1° les substances désinfectantes ; 2° les substances antiseptiques non bactéricides ; 3° et les substances bactéricides.

Dans la définition de ces trois groupes, les auteurs disent : 1° une *substance est désinfectante* lorsque, mise en contact avec des produits de la décomposition occasionnée par les microbes, produits qui sont nuisibles à notre organisme, elle a le pouvoir de les rendre inoffensifs par un dégagement d'oxygène à l'état naissant. L'O à l'état naissant est doué d'un pouvoir oxydant beaucoup plus considérable et beaucoup plus énergique que l'O de l'atmosphère

(1) MM. Rottenstein et Bourcart, *Les Antiseptiques, Étude comparative de leur action différente sur les bactéries.* Paris, 1891, thèse inaugurale.

non ozonifié. Ainsi l'O naissant se combine avec un autre atome d'O pour former une molécule d'O, dès qu'il n'est pas en présence d'une substance pour laquelle il a plus d'affinité. Si, au contraire, il arrive qu'un atome d'O se trouve en présence d'une substance pour laquelle il éprouve une certaine affinité, il se combinera de préférence avec celle-ci, au lieu d'aller à l'état de molécule inactive en se combinant avec un autre atome d'O.

L'action désinfectante de toute substance employée comme telle est basée sur cette réaction. Les substances employées comme désinfectants sont les suivantes : eau oxygénée H^2O^2, et ozone O^3, les permanganates de potasse et de soude $KMnO^4$ et $NaMnO^4$, le chlorure de chaux $CaCl^2O$, les hypochlorites de soude et de potasse NaClO et KClO, le chlorate de potasse $KClO^3$.

2° Les *substances antiseptiques non bactéricides* n'ont pas d'action sur les bactéries, mais par contre sur les tissus que ceux-ci ont choisis pour leur développement. Un changement dans la composition du tissu devra arrêter la formation de leurs colonies. Les bactéries exigent pour leur développement des conditions très différentes, les moyens à employer pour obtenir ces changements dans les tissus devront aussi être très différents. Une certaine composition chimique est aussi nécessaire qu'une certaine température.

Par l'abaissement de la température à l'aide des substances réfrigérantes et par élimination d'une certaine quantité d'eau des milieux sur lesquels les bactéries trouvent à former des colonies, à l'aide des *astringents*, on arrive à supprimer leur développement.

La quantité d'eau qui se trouve dans un tissu est de si grande importance pour le développement des microbes qu'une petite diminution de cette quantité obtenue à l'aide des substances qui ont de l'affinité pour l'eau peut empêcher tout développement microbien. Toutes ces substances, qui sont indirectement antiseptiques par leur affinité pour l'eau et par la tendance de se diluer jusqu'à un certain degré, sont inorganiques. Ce sont des sels et des acides qui agissent le mieux en solutions concentrées : les sels inoffensifs ou peu toxiques, tels que le sel marin NaCl, le sal-

pêtre $NaNO^3$ et KNO^3, l'alun $K^2SO^4Al^2(SO^4)^3 24H^2O$, le borax $Na^2B^4O^7$, le chlorure ferrique Fe^2Cl^6, etc. ; parmi les acides, l'acide borique BO^3H^3, qui, employé à l'état pulvérulent, élimine l'eau du tissu avec beaucoup plus d'avidité que la solution. Par contre, les autres sels et acides, qui ont une action plus ou moins toxique ou irritante sur les tissus, tels que le nitrate d'argent $AgNO^3$, le sulfate de zinc $ZnSO^4$ et le chlorure $ZnCl^2$, l'acide chromique CrO^3, les autres acides HCl, HNO^3, H^2SO^4, ne sont utilisés qu'en solutions diluées.

3° *Substances antiseptiques bactéricides.* — La plupart des substances employées comme antiseptiques sont douées de la faculté de tuer, dans de certaines concentrations, les micro-organismes. Le temps nécessaire pour stériliser un milieu dépend autant de la substance employée que du micro-organisme sur lequel elle doit agir.

Dans ce troisième groupe nous avons à faire une division en substances organiques et substances inorganiques, à cause de leur action qui est différente. Parmi les combinaisons inorganiques nous avons les sels de Hg, du Cu, Pb, Zn, Bi. Les combinaisons organiques, beaucoup plus nombreuses et qui voient leur nombre augmenter de jour en jour, proviennent pour la plupart aussi bien de la série grasse ou dérivée du méthane que de la série aromatique. Le pouvoir bactéricide dépend de deux facteurs différents : ou bien il est dû à la composition même de la substance telle qu'on la fait agir sur les microbes, ou, au contraire, aux produits de la décomposition que subissent ces combinaisons sous l'action même des micro-organismes.

Selon certains bactériologistes, les dérivés qui contiennent dans chaque molécule des éléments halogènes, iode, chlore, brome, agissent sur les microbes par une décomposition en éléments bactéricides ; ainsi, si nous prenons l'iodoforme, ce corps agit par la mise en liberté de l'iode occasionnée par le pouvoir réducteur des bactéries anaérobies ; l'iode, dont l'action est fortement bactéricide, agit immédiatement sur les microbes dès qu'il est mis en liberté ; le chloroforme, chloral, acide acétique trichloré, le sozoiodol, iodol, bromol, selon toutes probabilités, agissent selon cette nouvelle théorie de l'antisepsie.

Dans la série grasse nous n'avons que très peu de substances antiseptiques; celles de la série aromatique le sont toutes pour le motif que : plus une combinaison contient les hydro-carbures CH^3, C^6H^5, $C^{10}H^7$ et les dérivés de ceux-ci, plus son pouvoir bactéricide s'augmente; le groupe naphtyl $C^{10}H^7$ a une valeur antiseptique une fois plus forte que le groupe phényl C^6H^5, et celui-ci 5 à 6 fois plus que le groupe méthyl CH^3.

L'O combiné au carbone ou à l'hydrogène et même à l'azote sous forme de CO, COH, COOH, OH, NO et NO^2, etc., augmente de beaucoup le pouvoir bactéricide des dérivés des deux séries, les kétones, les aldéhydes, les phénols, les alcools, etc., etc. Parmi les combinaisons les plus actives sont celles dont l'O sera lié à l'hydrogène par l'une de ses affinités: ainsi les alcools, les phénols, les acides et les aldéhydes sont des antiseptiques plus énergiques que les kétones et les combinaisons avec les groupes NO ou NO^2; ces dernières sont moins antiseptiques, vu la présence de l'Az qui a un pouvoir antibactéricide.

Il a été prouvé jusqu'à l'évidence que chaque micro-organisme se comporte d'une manière différente en présence des substances antiseptiques.

En partant du benzol C^6H^6, le pouvoir bactéricide devient de plus en plus fort, à mesure que l'hydrogène est remplacé par CH^3 ou par les autres groupes antiseptiques; l'échelle est la suivante :

Benzol	C^6H^6
Toluol	$C^6H^5\ CH^3$
Xylol	$C^6H^4\ (CH^3)^2$
Mésitylène	$C^6H^3\ (CH^3)^3$
Hexaméthylbenzol	$C^6\ (CH^3)^6$

Combinaisons aromatiques contenant de l'O :

Parmi ces nombreuses combinaisons, les phénols et les acides sont les plus employés comme antiseptiques, parce que la plupart sont solubles dans l'eau. L'accroissement de leur pouvoir bactéricide est proportionnel au nombre d'hydroxyle, de carboxyle, d'hydrocarbure, etc., dans chaque molécule.

Il a été étudié le pouvoir bactéricide des mono-, bio- et trioxybenzols, les bioxybenzols

{ pyrocatéchine
résorcine
hydroquinone

qui sont plus antiseptiques que le monoxybenzol et les trioxybenzols

{ acide pyrogallique
phloroglucine

qui sont plus forts encore.

La présence d'un groupe carboxyle COOH dans les oxybenzols augmente le pouvoir antiseptique de beaucoup : ainsi l'acide salicylique C^6H^4OH
COOH
a un effet microbicide plus considérable que le phénol C^6H^5OH, et l'acide gallique

$$C^6H^2 \begin{array}{l} OH^1 \\ OH^3 \\ OH^4 \\ COOH^5 \end{array}$$

qui a une action plus forte que les trioxybenzols de la formule $C^6H^3(OH)^3$, et de même que le *tannin* qui est l'acide digallique.

Après avoir résumé le travail de MM. Rottenstein et Bourcart, nous voyons nettement la place assumée au tannin dans l'échelle des antiseptiques-bactéricides; nous comprenons maintenant ce qui est l'élément de son action. Dans le chapitre qui suit, nous verrons sa manière de se comporter à l'égard des bactéries.

CHAPITRE V

TECHNIQUE DES EXPÉRIENCES *in vitro*

Nous avons eu recours à la méthode recommandée par de Freudenreich (1), largement mise à contribution depuis par Worongolf, Winogradoff, Kollesnikoff, Spirig, etc.

Cette méthode est préférable à l'emploi des fils de soie qui, de l'avis de plusieurs bactériologistes, ont l'inconvénient de trop fixer les bactéries. Les morceaux de papier à filtrer Berzelius, mathématiquement coupés au tire-ligne et d'une surface de 1 centimètre carré, sont mis à tremper pendant 10 minutes dans une émulsion faite avec une culture sur agar de l'organisme soumis à l'étude. L'émulsion qui est faite avec 10 centimètres cubes d'eau stérilisée doit être trouble et sans parcelles flottantes. Après 10 minutes, on commence par réserver deux papiers témoins pour les contrôles de 5 minutes et de 24 heures; puis, en procédant à heures et minutes strictement observées, les autres papiers sont introduits dans les solutions titrées, après les avoir retirés de l'émulsion avec une double pincette stérilisée, en enlevant l'excédent d'eau que peut renfermer le papier.

Ceci fait, on retire de chaque godet réservé à chaque solution titrée le morceau de papier qui est mis pendant 5 minutes dans 10 centimètres cubes d'eau stérilisée, puis introduit dans le tube Petruschky renfermant 10 centimètres cubes de gélatine préalablement liquéfiée; le Petruschky est agité une vingtaine de fois, puis posé à plat et bien étiqueté pendant la durée de l'observation et à l'abri de la lumière.

Au bout d'un, deux, trois, quatre, cinq et six jours, on détermine le nombre des colonies. Le développement des colonies doit toujours se faire à une température jamais inférieure à 15 et 17 degrés.

(1) DE FREUDENREICH, *Annales de Micrographie*, III, p. 161.

Notre choix s'est porté sur les cinq micro-organismes suivants :

1° Bacillus anthracis.
2° » pyocyaneus.
3° Bacterium coli commune.
4° Cocco-bacillus prodigiosus.
5° Staphylococcus aureus.

Le 1, comme sporifère pathogène ; le 2 et 3, comme types du microbe de canal intestinal ; le 4, comme employé par d'autres observateurs pour presque toutes les recherches de désinfection ; le 5, comme microbe pyogène absent des voies digestives normales en dessous de l'estomac et fréquent dans les cas d'infection du canal intestinal.

Les substances ci-indiquées prises comme bactéricides :

Acide aspidospertannique.
» cafétannique.
» catéchutannique.
» gallique.
» kinotannique.
» ratanhiatannique.
» tannique.

Extrait de Ratanhia
Résine de Kino.

Ces deux dernières utilisées fréquemment en médecine ont servi de contrôle déterminant la différence entre les tannins purs et les préparations renfermant du tannin.

Les résultats, dont la longue nomenclature suit, détermineront dans chaque cas spécial la puissance bactéricide inhérente à chaque produit. Après chacune des cinq sections, on trouvera quelques observations qui nous ont été suggérées pendant le cours du travail.

Pour donner ensuite une vue d'ensemble des résultats obtenus, nous avons, sur le conseil de M. le Professeur Tavel, établi un graphique parabolique qui donne l'expression mathématique de notre travail.

Nous devons la formule qui a servi au calcul de cette parabole à l'obligeance de M. le Dr W. Schenkel, assistant à l'Institut de physique à l'Observatoire de Berne; elle est ainsi conçue :

$$y^2 = 100x$$

pour 1 min. $x = 1/3$ mm.

$$y = \sqrt{\frac{100}{3}} = 5{,}14 \text{ mm.}$$

En général, les ordonnées sont exprimées en millimètres et déterminées par l'équation suivante :

$$y = \frac{\sqrt{100\,n}}{3}$$

où n = (représente) le nombre de minutes.

Pour les besoins de l'impression, le tableau a été réduit dans la proportion de 22 à 14.

Indications concernant les abréviations employées dans les tableaux qui suivent :

A. m..............	Matin.
Col................	Colonies.
C. n. ou Col. n.. ..	Colonies naissantes.
P. m..............	Après-midi.
Liq	Liquéfaction.
Liq. part..........	Liquéfaction partielle.
Ram	Ramollissement de la masse.
Ram. part.........	— partiel.
Sans augm........	Sans augmentation.
T.................	Température.
∞	Colonies innombrables.

Les noms propres qui suivent la substance employée indiquent leur provenance.

(1)

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 22 avril 1896.

T. 19°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	1.900	sans aug.	liq.	728	sans aug.	liq.	812	866	liq.	730	741	liq.	528	sans aug.	liq.	373	612	liq.	0	267	liq.
24 avril 96, ∞. 25 avril 96. liq.	1 0/0	1.100	id.	liq.	860	id.	liq.	452	sans aug.	liq.	700	835	liq.	571	id.	liq.	406	447	liq.	0	136	liq.
24 heures..............	2 0/0	1.500	id.	liq.	800	id.	liq.	680	873	liq.	530	sans aug.	liq.	492	id.	liq.	567	sans aug.	liq.	0	188	liq.
25 avril 96, ∞. 26 avril 96, liq.	5 0/0	900	id.	liq.	790	815	liq.	408	429	liq.	202	243	liq.	148	161	liq.	311	»	liq.	0	23	liq.
L'acide aspidospertannique entrave le ramollissement.	10 0/0	180	id.	liq.	150	154	liq.	90	112	liq.	210	sans aug.	liq.	59	66	liq.	81	»	liq.	0	7	liq.

(2)

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 25 avril 1896.

T. 21°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	820	sans aug.	liq.	613	649	liq.	622	656	liq.	310	347	liq.	290	308	liq.	109	124	liq.	0	20	ram.
27 avril 1896, 6.300 c. 28 avril 1896, liq.	1 0/0	556	id.	liq.	398	412	liq.	245	283	liq.	169	192	liq.	143	151	liq.	72	86	liq.	0	15	ram.
24 heures.............	2 0/0	504	id.	liq.	361	sans aug.	liq.	277	sans aug.	liq.	141	sans aug.	liq.	157	sans aug.	liq.	38	sans aug.	liq.	0	4	7
28 avril 1896, 5.600 c.	5 0/0	212	id.	liq.	244	id.	liq.	183	id.	liq.	87	id.	liq.	74	id.	liq.	7	id.	liq.	0	0	0
29 avril 1896, liq.	10 0/0	113	id.	liq.	97	id.	liq.	46	id.	liq.	31	id.	liq.	48	id.	liq.	0	0	0	0	0	0

(3)

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*). | *Milieu de culture* : Agar. T. 20°.
Microbe : Bacillus anthracis. | *Date* : 27 avril 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	782	794	liq.	572	632	liq.	589	648	liq.	270	277	liq.	250	273	liq.	87	sans aug.	liq.	col.n.	18	ram.
29 avril 1896, 5724. 30 avril, liq.	1 0/0	510	535	liq.	358	391	liq.	205	264	liq.	129	149	liq.	117	135	liq.	31	id.	liq.	col.n.	9	ram.
24 heures.............	2 0/0	463	sans aug.	liq.	322	sans aug.	liq.	237	sans aug.	liq.	104	sans aug.	liq.	109	128	liq.	0	13	ram.	0	2	8
30 avril 1896, 5158.	5 0/0	171	id.	liq.	211	id.	liq.	143	id.	liq.	56	id.	liq.	49	sans aug.	liq.	0	17	ram.	0	0	1
1er mai 1896, liq.	10 0/0	119	id.	liq.	57	id.	liq.	39	id.	liq.	23	id.	liq.	0	37	liq.	0	0	0	0	0	0

(4)

Désinfectant : Acide cafétannique (Merck). | ***Milieu de culture*** : Agar. **T. 18°,50.**
Microbe : Bacillus anthracis. | ***Date*** : 23 avril 1896. **A. m.**

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	4	2	4	4
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	972	liq.
25 avril 1896, ∞. 27 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	5.342	liq.	col.n.	1.146	liq.
24 heures.............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	2.891	liq.	col.n.	904	liq.
26 avril 1896, ∞.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	9.807	liq.	—	col.n.	654	liq.	col.n.	570	liq.
28 avril 1896, liq.	10 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	7.523	liq.	—	col.n.	593	liq.	col.n.	528	liq.

(5)

Désinfectant : Acide cafétannique (Merck).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 27 avril 1896.

T. 20°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	4	2	3	4
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	2.548	liq.
29 avril 1896, ∞. 30 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	6.870	liq.	col.n.	1.635	liq.
24 heures.............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	5.614	liq.	col.n.	1.190	liq.
30 avril 1896, ∞. 1er mai 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	1.726	liq.	col.n.	864	liq.
	10 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	983	liq.	col.n.	681	liq.

(6)

Désinfectant : Acide catéchutannique (Merck).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 21 avril 1896.

T. 20°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	6.417	liq.	—	5.033	liq.	—	7.149	liq.	—	4.711	liq.	—	2.663	liq.	—	1.735	liq.	—
23 avril 1896, ∞. 25 avril 1896, liq.	1 0/0	5.421	liq.	—	4.089	liq.	—	2.897	liq.	—	3.223	liq.	—	2.642	liq.	—	930	liq.	—	866	liq.	—
24 heures.............	2 0/0	2.624	liq.	—	2.714	liq.	—	3.049	liq.	—	2.564	liq.	—	1.508	liq.	—	807	liq.	—	428	liq.	—
24 avril 1896, ∞. 25 avril 1896, liq.	5 0/0	3.911	liq.	—	1.355	liq.	—	954	liq.	—	873	liq.	—	1.121	liq.	—	624	liq.	—	433	liq.	—
	10 0/0	3.865	liq.	—	732	liq.	—	986	liq.	—	341	liq.	—	489	liq.	—	258	liq.	—	289	liq.	—

(7)

Désinfectant : Acide catéchutannique (Merck).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 23 avril 1896.

T. 19°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6
5 minutes..............	1/2 0/0	∞	liq.	—	6.896	liq.	—	4.341	liq.	—	4.236	liq.	—	3.004	liq.	—	2.720	liq.	—	1.500	liq.	—
25 avril 1896, ∞. 27 avril 1896, liq.	1 0/0	7.360	liq.	—	5.146	liq.	—	4.184	liq.	—	3.618	liq.	—	2.529	liq.	—	1.954	liq.	—	1.350	liq.	—
24 heures..............	2 0/0	6.727	liq.	—	3.938	liq.	—	3.709	liq.	—	2.911	liq.	—	1.746	liq.	—	1.136	liq.	—	868	liq.	—
26 avril, ∞. 28 avril, liq.	5 0/0	4.159	q.	—	2.162	liq.	—	2.263	liq.	—	1.969	liq.	—	1.388	liq.	—	1.109	liq.	—	1.212	liq.	—
	10 0/0	2.918	iq.	—	1.420	liq.	—	1.275	liq.	—	736	liq.	—	661	liq.	—	617	liq.	—	543	liq.	—

(8)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 20 avril 1896.

T. 24°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	4	2	3	4
5 minutes.............. 21 avril 1896, 24 h. ∞. 22 avril 1896, 2e j. liq.	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	981	981	liq. part.	741	liq.	—
24 heures.............. 22 avril 1896, 48 h. ∞. 23 avril 1896, 3 j. liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	6.390	liq.	—	957	liq.	—	574	574	id.	309	310	liq. part.

(9)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 24 avril 1896.

T. 19°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	4
5 minutes..............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	1.257	liq.	—	1.060	liq.	—
26 avril 1896, ∞. 27 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	7.130	liq.	—	849	liq.	—	628	liq.	—	417	442	liq.
24 heures..............																						
27 avril 1896, ∞....... 28 avril 1896, liq.......																						

(10)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie.
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 26 avril 1896.

T. 21°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	4	2	3	4	2	3	4
5 minutes..............	1/2 0/0	12.600	liq.	—	9.809	liq.	—	9.184	liq.	—	6.400	liq.	—	1.174	liq.	—	568	ram.	liq.	col.n.	287	ram.
28 avril 1896, ∞. 29 avril 1896, liq.	1 0/0	10.743	liq.	—	8.541	liq.	—	5.275	liq.	—	3.981	liq.	—	534	ram.	liq.	342	ram.	liq.	col.n.	196	ram.
24 heures..............																						
29 avril 1896, ∞....... 30 avril 1896, liq.......																						

(11)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 21°.
Microbe : Bacillus anthracis. | *Date* : 21 avril 1896. | A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	6
5 minutes...............	1/3 0/0	1.547	sans aug.	liq.	420	sans aug.	liq.	389	427	liq.	362	393	liq.	471	sans aug.	liq.	530	574	liq.	0	0	0
23 avril 1896, 8.200 col. 24 avril 1896, liq.																						
24 heures...............																						
24 avril 1896, 6.100 c. 25 avril 1896, liq.																						

(12)

Désinfectant **: Acide kinotannique (Schuchardt).** | ***Milieu de culture*** **: Agar.** | **T. 20°.**
Microbe **: Bacillus anthracis.** | ***Date*** **: 25 avril 1896.** | **A. m.**

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5-6
5 minutes..............	1/3 0/0	2.692	2.816	liq.	687	sans aug.	liq.	505	593	liq.	583	621	liq.	327	sans aug.	liq.	319	351	liq.	col.n.	18	32 liq.
27 avril 1896, ∞. 28 avril 1896, liq.																						
24 heures..............																						
28 avril 1896, ∞. 29 avril 1896, liq.																						

(13)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 2 juin 1896.

T. 22°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5
5 minutes	1/3 0/0	963	1.185	liq.	391	428	liq.	323	337	liq.	277	294	liq.	189	sans aug.	liq.	173	sans aug.	liq.	0	4	21
4 juin 1896, ∞. 5 juin 1896, liq.																						
24 heures																						
4 juin 1896, ∞. 5 juin 1896, liq.																						

(14)

Désinfectant : Acide ratanhiatannique (Haaf).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 22 avril 1896.

T. 19°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	5	2	3	5	2	3	6
5 minutes	1/2 0/0	8,357	liq.	—	10.428	liq.	—	7.931	liq.	—	1.508	liq.	—	1.832	liq.	—	col.n.	145	liq.	col.n.	221	liq.
24 avril 1896, ∞. 25 avril 1896, liq.	1 0/0	1.801	liq.	—	1.893	liq.	—	1.482	liq.	—	700	liq.	—	1.140	liq.	—	col.n.	224	liq.	0	107	liq.
24 heures	2 0/0	1.461	liq.	—	1.132	liq.	—	836	liq.	—	872	liq.	—	1.293	liq.	—	col.n.	113	liq.	0	80	liq.
25 avril 1896, ∞. 26 avril 1896, liq.	5 0/0	168	liq.	—	240	liq.	—	1.274	liq.	—	900	liq.	—	427	liq.	—	0	15	96	0	67	liq.
	10 0/0	227	liq.	—	263	liq.	—	118	liq.	—	73	liq.	—	86	86	liq.	0	10	10	0	0	0

(15)

Désinfectant : Acide ratanhiatannique (Haaf). | *Milieu de culture* : Agar. T. 21°.
Microbe : Bacillus anthracis. | *Date* : 26 avril 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	4	2	3	4	2	3	5-6
5 minutes.............	1/2 0/0	7.900	liq.	—	6.852	liq.	—	6.113	liq.	—	2.572	liq.	—	1.428	liq.	—	col.n.	626	liq.	col.n.	521	liq.
28 avril 1896, ∞. 29 avril 1896, liq.	1 0/0	2.487	liq.	—	2.364	liq.	—	2.251	liq.	—	1.130	liq.	—	989	liq.	—	col.n.	314	liq.	0	208	liq.
24 heures.............	2 0/0	1.926	liq.	—	1.538	liq.	—	1.300	liq.	—	986	liq.	—	col.n.	337	liq.	col.n.	290	liq.	0	113	ram.
29 avril 1896, ∞. 30 avril 1896, liq.	5 0/0	689	liq.	—	592	liq.	—	614	liq.	—	515	liq.	—	col.n.	292	liq.	0	117	liq.	0	39	44 liq.
	10 0/0	473	liq.	—	408	liq.	—	395	liq.	—	204	241	—	col.n.	185	liq.	0	93	98	0	12	17 liq.

(16)

Désinfectant : Acide tannique (noix de galle) (Gehe et C[ie]). | *Milieu de culture* : Agar. T. 24°.
Microbe : Bacillus anthracis. | *Date* : 20 avril 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	6.320	liq.	—	3.891	liq.	—	2.475	liq.	—	1.900	liq.	—	3.110	liq.	—	2.924	liq.	—	1.577	liq.	—
21 avril 1896, ∞. 22 avril 1896, liq.	1 0/0	4.750	liq.	—	3.400	liq.	—	2.934	liq.	—	2.708	liq.	—	1.507	liq.	—	1.063	liq.	—	3.312	liq.	—
24 heures.............	2 0/0	1.981	liq.	—	1.652	1.899	—	2.318	2.318	liq.	2.009	2.009	liq.	1.399	liq.	—	635	liq.	—	237	237	liq.
22 avril 1896, ∞. 23 avril 1896, liq.	5 0/0	1.572	1.572	liq.	1.706	liq.	—	2.104	liq.	—	1.364	liq.	—	866	liq.	—	515	liq.	—	480	480	liq.
	10 0/0	1.466	ram. part.	liq.	1.490	liq.	—	1.298	liq.	—	1.158	liq.	—	1.060	liq.	—	788	liq.	—	196	196	liq.

(17)

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et Cie). | *Milieu de culture* : Agar. T. 19°.
Microbe : Bacillus anthracis. | *Date* : 24 avril 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	5
5 minutes.............	1/2 0/0	3.900	liq.	—	5.941	liq.	—	4.165	liq.	—	2.732	liq.	—	2.193	liq.	—	1.871	liq.	—	1.638	liq.	—
26 avril 1896, ∞. 27 avril 1896, liq.	1 0/0	7.120	liq.	—	4.036	liq.	—	3.742	liq.	—	3.101	liq.	—	2.384	liq.	—	1,453	liq.	—	1.477	liq.	—
24 heures.............	2 0/0	5.673	liq.	—	3.232	liq.	—	3.889	liq.	—	3.568	liq.	—	2.262	liq.	—	1.328	liq.	—	926	liq.	—
27 avril 1896, ∞. 29 avril 1896, liq.	5 0/0	3.848	liq.	—	2.849	liq.	—	2.764	liq.	—	2.437	liq.	—	1.853	liq.	—	1.099	liq.	—	735	liq.	—
	10 0/0	3.117	liq.	—	1.930	liq.	—	2.150	liq.	—	2.021	liq.	—	1.641	liq.	—	851	liq.	—	304	422	liq.

(18)

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et Cie). | *Milieu de culture* : Agar. T. 21°,50.
Microbe : Bacillus anthracis. | *Date* : 2 juin 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	5	2	4	5
5 minutes.............	1/2 0/0	7.611	liq.	—	4.916	liq.	—	3.320	liq.	—	2.316	liq.	—	2.490	liq.	—	2.197	liq.	—	1.107	liq.	—
4 juin 1896, ∞. 5 juin 1896, liq.	1 0/0	5.935	liq.	—	3.722	liq.	—	3.538	liq.	—	2.904	liq.	—	1.258	liq.	—	1.506	liq.	—	1.394	liq.	—
24 heures.............	2 0/0	3.827	liq.	—	2.442	liq.	—	3.103	liq.	—	2.789	liq.	—	1.987	liq.	—	981	1.137	liq.	584	662	liq.
5 juin 1896, ∞. 6 juin 1896, liq.	5 0/0	2.710	liq.	—	2.278	liq.	—	2.434	liq.	—	2.275	liq.	—	1.614	liq.	—	802	915	liq.	607	607	liq.
	10 0/0	2.295	liq.	—	1.710	liq.	—	1.724	liq.	—	1.589	liq.	—	1.331	liq.	—	819	819	liq.	280	284	liq.

(19)

Désinfectant : Extrait de ratanhia (Ph. Helv.).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 20 avril 1896.

T. 24°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6
5 minutes..............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—
21 avril 1896, ∞. 23 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	15900	liq.	—	11600	liq.	—	7.250	liq.	—
24 heures..............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	16600	liq.	—	9.350	liq.	—	5.394	liq.	—
22 avril 1896, ∞. 24 avril 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	12300	liq.	—	6.880	liq.	—	4.710	liq.	—

(20)

Désinfectant : Extrait de ratanhia (Ph. Helv.).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 26 avril 1896.

T. 19°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6
5 minutes..............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—
26 avril 96, ∞. 27 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	13475	liq.	—	4397	liq.	—
24 heures..............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	10608	liq.	—	3644	liq.	—
27 avril 1896, ∞. 28 avril 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	8.420	liq.	—	3183	liq.	—

(21)

Désinfectant : Extrait de ratanhia (Ph. Helv.)
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 26 avril 1896.

T. 21°,30.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	4	6
5 minutes...............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—
26 avril 1896, ∞. 29 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—
24 heures...............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	8.607	liq.	—	6511	liq.	—
29 avril 1896, ∞. 30 avril 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	7.943	liq.	—	4872	liq.	—

(22)

Désinfectant : Résine Kino (Gehe et Cie) (Collection Brun).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 21 avril 1896.

T. 21°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6
5 minutes...............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—
23 avril 1896, ∞. 24 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	.	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—
24 heures...............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—
24 avril 1896, ∞. 25 avril 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	9.140	liq.	—

(23)

Désinfectant : Résine Kino (Gehe et Cie) (Collection Brun).
Microbe : Bacillus anthracis.

Milieu de culture : Agar.
Date : 25 avril 1896.

T. 20°,50.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—
27 avril 1896. ∞. 28 avril 1896. liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—
24 heures	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—
28 avril 1896. ∞. 29 avril 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—

RÉFLEXION. — Il est à remarquer qu'avec l'acide tannique, aspidospertannique et kinotannique, la liquéfaction est retardée au 4e, au 5e et même au 6e jour, tandis qu'avec les autres tannins elle a lieu le 3e jour sans exception.

Observations

Le Bacillus anthracis est rebelle à l'action des tannins, seuls les acides aspidospertannique et kinotannique manifestent leur effet. Notre résultat est conforme à celui obtenu par Wallizeck, avec cette différence que nous avons pu compter le nombre des colonies avant que la gélatine fût liquéfiée, ce qui ne lui avait pas été donné de faire, la liquéfaction ayant été très rapide; et si, d'autre part, le nombre des colonies trouvées par lui au bout de 24 heures est réduit de près d'un dixième sur les nôtres, cela provient de ce que son émulsion devait être beaucoup moins chargée en germes, ce que nous voyons par le chiffre de contrôle qui, de 1.000 colonies chez Wallizeck, est innombrable chez nous. Nous avons du reste aussi constaté une liquéfaction rapide de la masse gélatineuse.

Donc nos tannins n'ont pas montré, relativement à l'anthracis, une action bactéricide bien manifeste; il y a eu diminution, mais pas aussi grande qu'avec les autres microbes.

(24)

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*).
Microbe : Bacillus pyocyaneus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 14 avril 1896.

T. 21°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	529	liq.	—	357	liq.	—	23	76	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16 avril 1896, ∞. 17 avril 1896, liq.	1 0/0	231	liq.	—	80	liq.	—	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures	2 0/0	60	liq.	—	0	0	4	0	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17 avril 1896, ∞. Colonies moins serrées cependant.	5 0/0	6	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18 avril 1896, liq.	10 0/0	5	7	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(25)

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*).
Microbe : Bacillus pyocyaneus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 17 avril 1896.

T. 19°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	4-5	2	3	5	2	3	4	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	607	709	liq.	c. n.	428	liq.	c. n.	83	92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19 avril 1896, 8.000. 20 avril 1896, ram.	1 0/0	c. n.	457	liq.	c. n.	137	liq.	c. n.	21	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures	2 0/0	c. n.	43	54 liq.	c. n.	14	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20 avril 1896, 5.630. 22 avril 1896, liq.	5 0/0	c. n.	12	17 liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	c. n.	15	15 liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*). | *Milieu de culture* : Agar. T. 19°.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 17 avril 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes..............	1/2 0/0	c. n.	419	liq.	c. n.	122	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19 avril 1896, 6.287. 21 avril 1896, liq.	1 0/0	c. n.	183	liq.	0	94	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures..............	2 0/0	c. n.	75	liq.	0	11	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20 avril 1896, 4.036. 21 avril 1896, liq.	5 0/0	c. n.	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	c. n.	2	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0

Désinfectant : Acide cafétannique (Merck). | *Milieu de culture* : Agar. T. 20°.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 13 avril 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		3	4	6	3	4	6	3	4	5	3	4	5	3	4	5	3	4	6	3	4	6
5 minutes..............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	420	liq.	—	0	347	liq.	0	67	liq.	0	0	0	0	0	0
14 avril 1896, c. n. 15 avril 1896, ∞. 16 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	560	liq.	—	0	345	liq.	0	118	liq.	0	0	0	0	0	0
24 heures..............	2 0/0	∞	liq.	—	2.421	liq.	—	575	liq.	—	0	210	liq.	0	84	liq.	0	0	0	0	0	0
15 avril 1896, c. n. 16 avril 1896, ∞. 17 avril 1896, liq.	5 0/0	4.603	liq.	—	177	liq.	—	c. n.	89	liq.	0	70	liq.	0	25	liq.	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	126	liq.	—	50	liq.	—	4	liq.	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Le développement avec l'acide cafétannique est lent.

(28)

Désinfectant : Acide cafétannique (Merck).
Microbe : Bacillus pyocyaneus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 14 avril 1896.

T. 18°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		3	4	5	3	4	5	3	4	5-6	3	4	5	3	4	5	3	4	6	3	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	281	liq.	0	167	liq.	0	42	liq.	0	0	0	0	0	0
16 avril 1896, ∞. 18 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	364	liq.	0	215	liq.	0	68	liq.	0	0	0	0	0	0
24 heures	2 0/0	∞	liq.	—	1.924	liq.	—	c. n.	309	liq.	0	198	liq.	0	39	liq.	0	0	0	0	0	0
17 avril 1896, ∞.	5 0/0	3.180	liq.	—	256	liq.	—	c. n.	73	81 liq.	0	52	liq.	0	0	liq.	0	0	0	0	0	0
19 avril 1896, liq.	10 0/0	257	283	liq.	72	86	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(29)

Désinfectant : Acide cafétannique (Merck).
Microbe : Bacillus pyocyaneus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 18 avril 1896.

T. 20°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		3	4	6	3	4	5	3	4	5	3	4	5	3	4	5	3	4	6	3	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	liq.	—	6.954	liq.	—	263	sans aug.	ram.	0	49	ram.	0	9	11	0	0	0	0	0	0
20 avril 1896, ∞. 22 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	4.761	liq.	—	169	id.	ram.	0	57	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures	2 0/0	5.200	liq.	—	1.108	liq.	—	135	id.	ram.	0	64	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21 avril 1896, ∞.	5 0/0	2.456	liq.	—	94	sans aug.	ram.	54	id.	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23 avril 1896, liq.	10 0/0	93	liq.	—	31	35	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(30)

Désinfectant : Acide catéchutannique (Merck).
Microbe : Bacillus pyocyaneus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 9 avril 1896.

T. 18°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4-5	2	3	5	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	3.191	liq.	—	1.911	liq.	—	609	liq.	—	291	liq.	—	0	0	0
12 avril 1896, ∞. 14 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	2.309	liq.	—	2.142	liq.	—	1.425	liq.	—	745	liq.	—	163	liq.	—	0	0	0
24 heures	2 0/0	1.200	liq.	—	561	liq.	—	529	liq.	—	357	liq.	—	216	liq.	—	47	51	liq.	0	0	0
13 avril 1896, ∞.	5 0/0	927	liq.	—	205	236	liq.	173	210	liq.	98	101	liq.	0	38	61 liq.	11	17	liq.	0	0	0
15 avril, 1896, liq.	10 0/0	664	liq.	—	519	588	liq.	112	185	liq.	27	48	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(31)

Désinfectant : Acide catéchutannique (Merck).
Microbe : Bacillus pyocyaneus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 12 avril 1896.

T. 20°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	4	2	3	4-6	2	3	4-6	2	3	4-6	2	3	4	2	3	4	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	4.837	liq.	—	2.281	liq.	—	510	liq.	—	89	437	liq.	0	0	0
13 avril 1896, ∞. 14 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	3.871	liq.	—	3.009	liq.	—	1.268	liq.	—	343	liq.	—	251	liq.	—	0	0	0
24 heures	2 0/0	899	liq.	—	425	liq.	—	670	liq.	—	130	liq.	—	287	liq.	—	2	9	liq.	0	0	0
14 avril 1896, 13.720 col.	5 0/0	437	liq.	—	130	347	liq.	208	liq.	—	63	172	liq.	10	52	liq.	24	69	liq.	0	0	0
16 avril 1896, liq.	10 0/0	752	liq.	—	627	liq.	—	468	525	liq.	430	liq.	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(32)

Désinfectant : Acide catéchutannique (Merck).
Microbe : Bacillus pyocyaneus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 19 avril 1896.

T. 20°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	4	5	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	2.327	liq.	—	1.165	liq.	—	216	s. aug.	ram.	c. n.	63	ram.	0	0	0
21 avril 1896, ∞. 23 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	2.586	liq.	—	1.709	liq.	—	981	liq.	—	235	id.	ram.	c. n.	87	ram.	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	1.341	liq.	—	605	liq.	—	413	ram.	liq.	278	liq.	—	189	id.	ram.	5	9	ram.	0	0	0
22 avril 1896, ∞. 24 avril 1896, liq.	5 0/0	1.120	liq.	—	494	521	liq.	85	96	liq.	44	ram.	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	874	liq.	—	683	ram.	liq.	132	ram.	liq.	51	ram.	liq.	0	4	4	0	0	0	0	0	0

(33)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie).
Microbe : Bacillus pyocyaneus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 9 avril 1896.

T. 19°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	48	467	liq.	36	115	liq.	19	74	liq.	0	13	liq.	0	0	0	0	0	0
11 avril, en partie liq. 12 avril, liq.	1 0/0	87	313	liq.	133	133	liq.	125	125	liq.	12	89	liq.	0	7	liq.	0	0	0	0	0	0
24 heures.............																						
12 avril 1896, ∞. 16 avril 1896, liq.																						

(34)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 20°.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 11 avril 1896. | P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	4	2	3	4	2	3	5	2	3	4	2	4	5	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	6.209	liq.	—	212	271	liq.	53	93	liq.	81	ram. part.	liq.	6	19	liq.	0	0	0	0	0	0
13 avril 1896, ∞. 14 avril 1896, liq.	1 0/0	329	s. aug	liq.	77	184	liq.	60	86	liq.	22	26	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............																						
14 avril 1896, ∞. 16 avril 1896, liq.																						

(35)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 20°.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 16 avril 1896. | A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	4	4	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	2.028	ram.	liq.	610	733	ram.	96	127	ram.	0	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18 avril 1896, ∞. 20 avril 1896, liq.	1 0/0	120	412	ram.	397	s. aug.	ram.	24	38	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............																						
19 avril 1896, ∞. 21 avril 1896, liq.																						

(36)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt). | *Milieu de culture* : Agar. T. 18°.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 10 avril 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/3 0/0	0	103	liq.	0	26	68 ram. part.	0	18	21 ram. part.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12 avril 1896, ∞. 13 avril 1896, liq.																						
24 heures.............																						
13 avril 1896, ∞. 14 avril 1896, liq.																						

(37)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt). | *Milieu de culture* : Agar. T. 21°.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 15 avril 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/3 0/0	0	54	liq.	0	8	11	0	14	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16 avril 1896, ∞. 17 avril 1896, liq.																						
24 heures.............																						
17 avril 1896, ∞. 18 avril 1896, liq.																						

(38)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt). | *Milieu de culture* : Agar. T. 19°,50.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 18 avril 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5-6	2	4	5-6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............. 20 avril 1896, 9.000. 22 avril 1896, liq.	1/3 0/0	21	88	91 liq.	2	47	59 liq.	0	3	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............. 21 avril 1896, ram., non compté les colonies.																						

(39)

Désinfectant : Acide ratanhiatannique (Haaf). | *Milieu de culture* : Agar. T. 18°,5.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 14 avril 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	4	2	3	4	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	6
5 minutes..............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	--	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	4.807	liq.	218	752	liq.	0	0	0
16 avril 1896, ∞. 17 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	4.701	liq.	11	2.150	liq.	16	623	liq.	0	0	0
24 heures..............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	4.150	liq.	18	3.621	liq.	4	1.590	liq.	12	461	liq.	0	0	0
17 avril 1896, ∞, moins cependant 1/2 au jugé.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	3.084	liq.	13	635	liq.	9	93	liq.	5	124	liq.	0	0	0
18 avril 1896, liq.	10 0/0	∞	liq.	—	c. n.	694	liq.	127	215	liq.	8	115	liq.	3	4	liq.	0	0	0	0	0	0

(40)

Désinfectant : Acide ratanhiatannique (Haaf).
Microbe : Bacillus pyocyaneus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 19 avril 1896.

T. 20°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	2.852	liq.	—	312	ram.	0	0	0
21 avril 1896, ∞. 23 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	3.142	liq.	c. n.	1.604	liq.	0	109	137	0	0	0
24 heures	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	3.280	liq.	c. n.	2.571	liq.	c. n.	1.213	liq.	0	0	28	0	0	0
22 avril 1896, ∞.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	2.406	liq.	c. n.	998	liq.	c. n.	220	liq.	0	0	49	0	0	0
24 avril 1896, liq.	10 0/0	∞	liq.	—	c. n.	502	liq.	c. n.	393	liq.	c. n.	216	liq.	0	58	ram.	0	0	16	0	0	0

(41)

Désinfectant : Acide tannique (noix de galle) (Gehe et Cie).
Microbe : Bacillus pyocyaneus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 9 avril 1896.

T. 19°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	liq.	—	c. n.	∞	liq.	c. n.	1.800	liq.	0	c. n.	265	0	c. n.	166	0	0	0	0	0	0
11 avril 1896, ∞. 12 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	c. n.	3.814	liq.	c. n.	1.251	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures	2 0/0	∞	liq.	—	c. n.	807	liq.	c. n.	697	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12 avril 1896, ∞.	5 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13 avril 1896, liq.	10 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et Cie).
Microbe : Bacillus pyocyaneus.

Milieu de culture : Agar. T. 18°.
Date : 11 avril 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de coloni. en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes..............	1/2 0/0	c. n.	∞	liq.	c. n.	∞	ram.	c. n.	2.890	ram.	c. n.	247	247	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13 avril 1896, ∞. 15 avril 1896, liq.	1 0/0	c. n.	∞	liq.	c. n.	4.153	ram.	c. n.	1.753	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures..............	2 0/0	c. n.	3.200	ram.	c. n.	1.271	ram.	c. n.	523	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14 avril 1896, ∞. 16 avril 1896, liq.	5 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
La température étant d'un degré moins élevé a retardé la liquéfaction.	10 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Désinfectant **: Acide tannique (Gehe et Cie).**
Microbe **: Bacillus pyocyaneus.**

Milieu de culture **: Agar.** **T. 20°.**
Date **: 13 avril 1896.** **A. m.**

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes..............	1/2 0/0	4.807	ram.	liq.	4.445	ram.	liq.	931	s. aug.	ram.	0	58	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15 avril 1896, ∞. 16 avril 1896, liq.	1 0/0	2.516	ram.	liq.	2.798	ram.	liq.	625	s. aug.	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures..............	2 0/0	c. n.	1.268	liq.	896	1.107	liq.	c. n.	93	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15 avril 1896. 12.000 col.	5 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16 avril 1896, ram.	10 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(44)

Désinfectant : Extrait de ratanhia (Ph. Helv.) (Collect. Brun). | *Milieu de culture* : Agar. T. 19°.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 9 avril 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	4	5	2	4	5
5 minutes	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	2.327	liq.	—	c. n.	1.683	liq.	c. n.	225	liq.
11 avril 1896, ∞. 12 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	1.954	liq.	—	c. n.	1.251	liq.	c. n.	198	liq.
24 heures	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	1.186	liq.	—	c. n.	939	liq.	c. n.	142	liq.
12 avril 1896, ∞. 13 avril 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	874	liq.	—	c. n.	740	liq.	c. n.	97	liq.

(45)

Désinfectant : Extrait de ratanhia (Ph. Helv.) (Collect. Brun). | *Milieu de culture* : Agar. T. 20°,5.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 11 avril 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	4	5
5 minutes	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	1.860	ram.	liq.	1.151	sans aug.	ram.	c. n.	108	ram.
13 avril 1896, ∞. 15 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	1.754	ram.	liq.	822	id.	ram.	c. n.	77	ram.
24 heures	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	4.803	ram.	liq.	936	ram.	liq.	473	520	ram.	c. n.	93	ram.
14 avril 1896, ∞. 16 avril 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	2.741	ram.	liq.	409	ram.	liq.	206	213	ram.	c. n.	36	ram.

(46)

Désinfectant : Extrait de ratanhia (Pharm. Helv.) (Collect. Brun). | *Milieu de culture* : Agar. T. 20°.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 16 avril 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	4	2	3	4	2	3	4
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	3.612	ram.	liq.	c. n.	2.113	liq.	c. n.	1.106	liq.
18 avril 1896, ∞. 20 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	2.904	liq.	c. n.	1.524	liq.	c. n.	624	liq.
24 heures.............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	1.827	liq.	c. n.	1.269	liq.	c. n.	215	ram.
21 avril, ∞. 23 avril, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	853	liq.	c. n.	807	liq.	c. n.	173	ram.

(47)

Désinfectant : Résine de Kino (Gehe et Cie) (Collection Brun). | *Milieu de culture* : Agar. T. 18°.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 10 avril 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	4	5	2	4	5	2	4	5
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	4.308	liq.	c. n.	1.161	liq.	c. n.	132	liq.
12 avril 1896, ∞. 13 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	3.220	liq.	—	2.807	liq.	—	c. n.	3.617	liq.	c. n.	969	liq.	c. n.	86	liq.
24 heures.............	2 0/0	∞	liq.	—	2.945	liq.	—	1.857	liq.	—	1.642	liq.	—	c. n.	1.230	liq.	c. n.	677	liq.	c. n.	93	liq.
13 avril, ∞............ 14 avril, liq...........	5 0/0	4.871	liq.	—	2.663	liq.	—	1.320	liq.	—	1.441	liq.	—	c. n.	524	liq.	c. n.	381	liq.	c. n.	47	liq.

Désinfectant : Résine de Kino (Gehe et Cie) (Collection Brun). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 21°.
Microbe : Bacillus pyocyaneus. | *Date* : 15 avril 1896. | A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	4	2	3	4	2	3	4
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	5.064	liq.	—	c. n.	1.571	liq.	c. n.	736	liq.	c. n.	12	17
17 avril 1896, ∞. 19 avril 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	6.609	liq.	—	2.982	liq.	—	1.283	liq.	—	c. n.	562	liq.	c. n.	181	liq.	0	2	6
24 heures.............	2 0/0	∞	liq.	—	1.827	liq.	—	1.230	liq.	—	997	liq.	—	c. n.	310	liq.	c. n.	39	liq.	0	0	0
18 avril 1896, ∞. 20 avril 1896, liq.	5 0/0	3.251	liq.	—	1.134	liq.	—	846	liq.	—	671	liq.	—	c. n.	243	liq.	0	46	liq.	0	0	0

Observations

En prenant le graphique intercalé dans le texte, nous voyons que le *Bacillus pyocyaneus* est très sensible à l'action des *Tannins*. Par ordre de mérite nous signalons : 1° l'*acide aspidospertannique* qui, de 15 minutes à deux heures, arrête le développement de toute colonie ; — 2° l'*acide kinotannique*, très énergique, qui tue à 30 minutes le micro-organisme ; — 3° l'*acide tannique* ; — 4° l'*acide cafétannique* ; — 5° l'*acide gallique* ; — 6° l'*acide catéchutannique* ; — 7° l'*acide ratanhiatannique*. — Ces deux derniers se tiennent de très près ; puis, enfin, la *résine de Kino* et l'*extrait de ratanhia*. — Il est aisé de constater que l'action des tannins est plus forte que celle des produits renfermant des tannins.

Le développement des colonies avec l'acide cafétannique est lent.

En général, beaucoup d'irrégularité dans le temps que met le microbe à liquéfier la gélatine. Il est à remarquer cependant que plus le tannin est énergique plus la liquéfaction est retardée. Ex. : l'*acide aspidospertannique* arrête la liquéfaction jusqu'au 5° jour, tandis qu'avec l'*extrait de ratanhia* la liquéfaction a lieu la plupart du temps déjà le troisième jour.

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*). | *Milieu de culture* : Agar. T. 20°.
Microbe : Bact. coli commune. | *Date* : 21 mai 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	34	108	—	68	s. aug.	—	0	0	0	0	0	0
23 mai 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	123	460	—	29	43	—	47	s. aug.	—	0	0	0	0	0	0
24 heures	2 0/0	∞	—	—	125	380	—	34	s. aug.	—	33	51	—	18	33	—	0	0	0	0	0	0
24 mai 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	15	24	—	28	s. aug.	—	17	21	—	9	16	—	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	23	37	—	4	9	—	0	1	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*). | *Milieu de culture* : Agar. T. 20°,50.
Microbe : Bact. coli commune. | *Date* : 11 juin 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	6.306	—	—	2.271	—	—	982	—	—	21	43	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13 juin 1896, ∞.	1 0/0	4.154	—	—	1.308	—	—	c. n.	415	—	12	19	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures	2 0/0	1.789	—	—	109	137	—	12	17	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14 juin 1896, ∞.		623	—	—	9	13	—	16	16	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	18	—	—	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(51)

Désinfectant : Acide cafétannique (Merck).
Microbe : Bact. coli commune.

Milieu de culture : Agar.
Date : 20 mai 1896.

T. 20°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	394	—	0	8	73	0	c. n.	137
22 mai 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	∞	—	c. n.	2.777	—	c. n.	415	—	0	26	96	0	c. n.	265
24 heures	2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	∞	—	c. n.	3.282	—	c. n.	227	—	0	3	54	0	c. n.	41
23 mai 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	c. n.	3.161	—	c. n.	2.009	—	c. n.	136	—	0	83	—	0	0	29	0	c. n.	8
	10 0/0	c. n.	2.907	3.741	0	62	—	0	35	—	0	28	—	0	19	—	0	0	0	0	0	0

(52)

Désinfectant : Acide cafétannique (Merck).
Microbe : Bact. coli commune.

Milieu de culture : Agar.
Date : 24 mai 1896.

T. : 21°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	217	—	0	53	57	0	11	11
26 mai 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	1.826	—	c. n.	238	—	0	41	46	0	0	8
24 heures	2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	2.424	—	c. n.	1.241	—	c. n.	115	—	0	79	79	0	3	3
27 mai 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	c. n.	3.546	—	c. n.	2.329	—	c. n.	552	—	c. n.	71	—	0	2	8	0	0	0
	10 0/0	c. n.	3.610	—	c. n.	138	141	0	97	97	0	84	89	0	29	—	0	0	0	0	0	0

(53)

Désinfectant : Acide catéchutannique (Merck). | *Milieu de culture* : Agar. T. 20°,50.
Microbe : Bact coli. commune. | *Date* : 22 mai 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	7.065	—	—	0	0	0	0	0	0
24 mai 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	2.909	sans aug.	—	693	sans aug.	—	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	∞	—	—	817	1.036	—	1.268	sans aug.	—	724	841	—	61	92	—	0	0	0	0	0	0
25 mai 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	894	sans aug.	—	538	sans aug.	—	88	sans aug.	—	28	41	—	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	869	sans aug.	—	91	sans aug.	—	72	sans aug.	—	64	67	—	37	79	—	0	0	0	0	0	0

(54)

Désinfectant : Acide catéchutannique (Merck). | *Milieu de culture* : Agar. T. 21°.
Microbe : Bact. coli commune. | *Date* : 22 juin 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	2.430	—	—	0	0	0	0	0	0
24 juin 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	608	sans aug.	—	1.127	—	—	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	∞	—	—	441	sans aug.	—	∞	—	—	593	id.	—	38	—	—	0	0	0	0	0	0
25 juin 1896, ∞.	5 0/0	450	483	—	115	sans aug.	—	54	sans aug.	—	22	id.	—	16	—	—	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	90	114	—	23	31	—	27	—	—	18	id.	—	10	—	—	0	0	0	0	0	0

(55)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie).
Microbe : Bact. coli commune.

Milieu de culture : Bouillon.
Date : 19 mai 1896.

T. 19°,50.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	5	2	3	5	2	3	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	—	—	c. n	571	—	c. n.	280	—	0	39	—	0	33	51	0	16	72	0	102	
21 mai 1896, ∞.	1 0/0	c. n.	3.963	—	c. n.	125	—	c. n.	43	—	0	28	—	0	17	42	0	5	32	0	68	
24 heures.............																						
22 mai 1896, ∞.																						

(56)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie).
Microbe : Bact. coli commune.

Milieu de culture : Agar.
Date : 22 mai 1896.

T. 19°,.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	5	2	3	5	2	3	5	2	3	5
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	—	—	c. n.	649	—	c. n.	355	—	0	61	76	0	24	63	0	18	57	0	6	19
24 mai 1896, ∞.	1 0/0	c. n.	2.732	—	c. n.	212	—	c. n.	89	—	0	28	37	0	9	15	0	4	36	0	3	11
24 heures.............																						
25 mai 1896, ∞.																						

(57)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie).
Microbe : Bact. coli commune.

Milieu de culture : Agar.
Date : 12 juin 1896.

T. 20°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	5	2	4	6	2	4	5	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	c. n.	1.600	—	c. n.	362	—	c. n.	173	—	0	39	41	0	11	22	0	1	3	0	0	0
14 juin 1896, ∞.	1 0/0	c. n.	1.125	—	c. n.	196	—	c. n.	66	—	0	7	15	0	3	9	0	0	0	0	0	0
24 heures																						
15 juin 1896, ∞.																						

(58)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt).
Microbe : Bact. coli commune.

Milieu de culture : Agar.
Date : 20 mai 1896.

T. 21°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/3 0/0	60	60	83	0	0	7	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22 mai 1896, ∞.																						
24 heures																						
23 mai 1896, ∞.																						

(59)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt). | *Milieu de culture* : Agar. T. 19°,50.
Microbe : Bact. coli commune. | *Date* : 23 mai 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/3 0/0	115	117	—	0	28	31	0	2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25 mai 1896, ∞.																						
24 heures.............																						
26 mai 1896, ∞.																						

(60)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt). | *Milieu de culture* : Agar. T. 20°.
Microbe : Bact. coli commune. | *Date* : 9 juin 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/3 0/0	96	98	—	4	32	—	0	9	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11 juin 1896, ∞.																						
24 heures.............																						
12 juin 1896, ∞.																						

(61)

Désinfectant : Acide ratanhiatannique (Haaf). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 20°.

Microbe : Bact. coli commune. | *Date* : 23 mai 1896. | P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes...............	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	∞	—	c. n.	385	—
24 mai 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	∞	—	c. n.	210	—
24 heures..............	2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	3.140	sans aug.	c. n.	146	—
25 mai 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	1.275	sans aug.	c. n.	99	—
	10 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	2.600	sans aug.	c. n.	960	sans aug.	c. n.	47	—

(62)

Désinfectant : Acide ratanhiatannique (Haaf). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 20°,50.

Microbe : Bact. coli commune. | *Date* : 25 juin 1896. | A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes..............	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	63	72	89
26 juin 1896. ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	4.300	—	18	33	49
24 heures..............	2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	2.105	—	47	55	64
26 juin 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	1.675	—	—	3	7
	10 0/0	∞	—	—	∞	—	—	1.800	—	—	1.523	—	—	1.765	—	—	c. n.	619	—	—	0	2

(63)

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et Cie).
Microbe : Bact. coli commune.
Milieu de culture : Bouillon.
Date : 19 mai 1896.
T. 19°,50.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	0	0	0	0	0	0
21 mai 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	413	sans aug.	—	0	0	0	0	0	0
24 heures	2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	821	sans aug.	—	120	—	—	0	0	0	0	0	0
22 mai 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	348	582	—	709	sans aug.	—	137	320	—	58	229	—	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	∞	—	—	243	408	—	27	80	—	39	52	—	0	64	—	0	0	0	0	0	0

(64)

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et Cie).
Microbe : Bact. coli commune.
Milieu de culture : Agar.
Date : 21 mai 1896.
T. 19°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	651	sans aug.	—	136	159	-	0	0	0
23 mai 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	331	id.	—	120	161	—	0	0	0
24 heures	2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	1.526	sans aug.	—	175	210	—	36	43	—	0	0	0
24 mai 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	849	sans aug.	—	617	sans aug.	—	283	id.	—	66	sans aug.	—	8	8	—	0	0	0
	10 0/0	∞	—	—	562	—	—	52	76	—	47	id.	—	16	38	—	0	0	0	0	0	0

(65)

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et C[ie]).
Microbe : Bact. coli commune.

Milieu de culture : Agar.
Date : 25 mai 1896.

T. 20°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	—	—	c. n.	∞	—	c. n.	∞	—	c. n.	∞	—	c. n.	∞	—	0	0	0	0	0	0
27 mai 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	c. n.	∞	—	c. n.	∞	—	c. n.	1.397	—	c. n.	951	—	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	∞	—	—	c. n.	∞	—	c. n.	794	—	c. n.	523	—	c. n.	289	—	0	0	0	0	0	0
28 mai 1896, ∞.	5 0/0	c. n.	∞	—	c. n.	618	653	c. n.	510	510	0	218	—	0	70	86	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	c. n.	∞	—	c. n.	352	417	c. n.	86	86	0	43	—	0	0	4	0	0	0	0	0	0

(66)

Désinfectant : Extr. de ratanhia (Ph. Helv.).
Microbe : Bact. coli commune.

Milieu de culture : Bouillon.
Date : 19 mai 1896.

T. 19°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		1	4	6	1	4	6	1	4	6	1	4	6	1	4	6	1	4	6	1	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	0	27	sans aug.
21 mai 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	12460	—	—	0	33	sans aug.
24 heures.............	2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	17314	—	—	0	0	0
22 mai 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	9.081	—	—	0	0	0

(67)

Désinfectant : Extr. de ratanhia (Ph. Helv.).
Microbe : Bact. coli commune.

Milieu de culture : Agar.
Date : 22 mai 1896.

T. 19°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		1	4	6	1	4	6	1	4	6	1	4	6	1	4	6	1	4	6	1	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	296	sans aug.
23 mai 1896. ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	c. n.	83	sans aug.
24 heures	2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	0	0	0
24 mai 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	7.310	—	—	0	0	0

(68)

Désinfectant : Résine de kino (Gehe et Cie).
Microbe : Bact. coli commune.

Milieu de culture : Agar.
Date : 20 mai 1896.

T. 21°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—		∞	—	—	c. n.	337	
22 mai 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—		∞	—	—	c. n.	285	
24 heures	2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	4.723	4.723		854	928	—	c. n.	925	
23 mai 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	5.587	5.587	—	6.301	6.301		540	540	—	c. n.	160	

Désinfectant: Résine de kino (Gehe et Cie). | *Milieu de culture*: Agar. T. 19°,50.
Microbe: Bact. coli commune. | *Date*: 23 mai 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	12.000	—	—
25 mai 1896, ∞.	1 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	3.527	—	—
24 heures.............	2 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	11.963	—	—	2.476	—	—	1.112	—	—
26 mai 1896, ∞.	5 0/0	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	∞	—	—	9.635	—	—	1.258	—	—	716	—	—

Observations

Les tannins agissent d'une manière un peu incohérente sur le bactérium coli. Ceux qui agissent très bien sont, par ordre d'énergie :

1° *L'Acide kinotannique ;*
2° *L'Acide aspidospertannique ;*
3° *L'Acide catéchutannique ;*
4° *L'Acide tannique.*

Les autres sont plus ou moins inactifs.

L'acide gallique cependant mérite exception, car le maximum lui donne une place avantageuse dans la série, bien que le minimum lui fasse occuper un rang dans les 24 heures. En effet, si nous prenons l'expérience *in vitro* du 12 juin, soit celle qui porte le n° 57, nous voyons que le nombre des colonies est minime depuis 15 minutes à 1/2 et 1 0/0 relativement au nombre innombrable des colonies dans la plaque contrôle, et le nombre de 4.600 colonies au bout de 2 minutes à 1/2 0/0 et 1.125 colonies au bout de 2 minutes à 1 0/0.

(70)

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*).
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 10 mai 1896.

T. 20°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes..............	1/2 0/0	2.706	liq.	—	320	574	liq.	29	41	liq.	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0
12 mai 1896, ∞. 14 mai 1896, liq.	1 0/0	1.134	liq.	—	43	43	liq.	13	18	liq.	0	0	0	0	7	7	0	0	0	0	0	0
24 heures..............	2 0/0	189	230	liq.	12	17	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13 mai 1896, ∞.	5 0/0	0	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15 mai 1896, liq.	10 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(71)

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*).
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 14 mai 1896.

T. 19°,50
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes..............	1/2 0/0	641	liq.	—	46	sans aug.	liq.	63	71	liq.	6	17	liq.	1	13	liq.	0	0	0	0	0	0
16 mai 1896, 8.300 col. 18 mai 1896, liq.	1 0/0	827	liq	—	57	63	liq.	42	sans aug.	liq.	25	32	liq.	11	13	liq.	0	0	0	0	0	0
24 heures..............	2 0/0	115	117	liq.	12	sans aug.	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17 mai 1896, 5.900 col	5 0/0	36	42	liq.	0	8	liq. 6e j.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19 mai 1896, liq.	10 0/0	89	89	liq.	3	3	liq. 6e j.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*). | *Milieu de culture* : Agar. T. 19°.
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus. | *Date* : 17 mai 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	4	2	3	6	2	3	6	2	4	5	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	822	liq.	—	93	liq.	—	82	liq.	—	67	liq.	—	18	sans aug.	liq.	0	0	0	0	0	0
19 mai 1896, 9.100 col. 21 mai 1896, liq.	1 0/0	640	liq.	—	54	liq.	—	61	liq.	—	39	liq.	—	24	id.	liq.	0	0	0	0	0	0
24 heures	2 0/0	225	liq.	—	3	5	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20 mai 1896, 7.400 col.	5 0/0	112	liq.	—	8	12	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21 mai 1896, liq.	10 0/0	93	liq.	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Désinfectant : Acide cafétannique (Merck). | *Milieu de culture* : Agar. T. 20°.
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus. | *Date* : 10 mai 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	11093	liq.	—	531	liq.	—	18	37	liq.	12	16	liq.	c. n.	19	liq.	0	0	0	0	0	0
12 mai 1896, ∞. 14 mai 1896, liq.	1 0/0	10835	liq.	—	125	liq.	—	20	28	liq.	34	55	liq.	c. n.	27	liq.	0	0	0	0	0	0
24 heures	2 0/0	8.970	liq.	—	47	53	liq.	22	22	liq.	0	11	liq.	0	4	liq.	0	0	0	0	0	0
13 mai 1896, ∞.	5 0/0	28	67	liq.	13	17	liq.	54	54	liq.	2	7	liq.	0	3	liq.	0	0	0	0	0	0
15 mai 1896, liq.	10 0/0	c. n.	15	liq.	c. n.	12	liq.	9	9	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

OBSERVATION. — Le prodigiosus, qui s'était toujours développé blanc, sous l'influence du tannin du café a repris sa teinte rouge.

(74)

Désinfectant: Acide cafétannique (Merck). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 20°.
Microbe: Cocco Bac. prodigiosus. | *Date* : 14 mai 1896. | A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	5	2	3	5	2	3	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	3.956	liq.	—	427	liq.	—	col.n.	58	liq.	0	7	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16 mai 1896, ∞. 18 mai 1846, liq.	1 0/0	3.124	liq.	—	96	108	liq.	col.n.	29	liq.	0	3	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	2.033	liq.	—	33	47	liq.	col.n.	18	liq.	0	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18 mai 1896, ∞. 19 mai 1896, liq.	5 0/0 10 0/0	129 0	165 4	liq. 6	8 col.n.	8 2	8 3	col n. 0	4 1	7 3	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0

Observation importante : Pour contrôler la coloration du Prodigiosus par l'acide cafétannique, nous avons repris du Prodigiosus décoloré : le même phénomène s'est produit.

(75)

Désinfectant: Acide cafétannique (Merck). | *Milieu de culture*: Agar. | T. 20°.
Microbe: Cocco Bac. prodigiosus. | *Date*: 18 mai 1896. | A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	5	2	3	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	2.487	liq.	—	201	237	liq.	0	23	liq.	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20 mai 1896, 9.000 col. 22 mai 1896, liq.	1 0/0	1.934	liq.	—	92	104	liq.	0	11	liq.	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	788	liq.	--	34	34	liq.	0	9	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21 mai 1896, 6.800 col. 23 mai 1896, liq.	5 0/0 10 0/0	73 0	89 12	liq. liq.	0 0	6 1	liq. 3	0 0	0 0	5 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0

Nous devons faire observer que les solutions d'acide cafétannique, depuis 1/2 jusqu'à 10 0/0, nous ont donné la coloration du Prodigiosus en rouge intense, — et que moins l'émulsion était chargée, par conséquent moins les colonies étaient nombreuses et serrées, plus la coloration a été obtenue rapidement.

Désinfectant: Acide catéchutannique (Merck).
Microbe: Cocco Bac. prodigiosus.

Milieu de culture: Agar.
Date: 9 mai 1896.

T. 20°.
A. M.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes..............	1/2 0/0	col.n.	∞	liq.	col.n.	∞	liq.	col.n.	∞	liq.	col.n.	∞	liq.	col.n.	∞	liq.	0	1.127	liq.	0	0	0
11 mai 1896, ∞. 13 mai 1896, liq.	1 0/0	col.n.	∞	liq.	col.n.	∞	liq.	0	∞	liq.	0	2.403	liq.	0	841	liq.	0	0	12	0	0	0
24 heures..............	2 0/0	col.n.	∞	liq.	col.n.	∞	liq.	0	3.682	liq.	0	0	83	0	36	180	0	0	37	0	0	0
12 mai 1896, 8.600 col. 14 mai 1896, liq.	5 0/0 10 0/0	7.906 0	liq. 1.526	liq. liq.	2.861 0	liq. 328	— liq.	192 0	liq. 0	— 84	105 0	liq. p. 0	— 43	63 0	liq. p. 0	— 32	0 0	11 0	11 23	0 0	0 0	0 0

Odeur caractéristique de triméthylamine. Cette odeur n'a pas paru aussi intense sous l'influence des autres tannins.

Désinfectant: Acide catéchutannique (Merck).
Microbe: Cocco Bac. prodigiosus.

Milieu de culture: Agar.
Date: 13 mai 1896.

T. 20°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	3	5	2	3	5	2	3	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5
5 minutes..............	1/2 0/0	∞	liq.	—	col.n.	∞	liq.	col.n.	∞	liq.	col.n.	6.06[illegible]	liq.	col.n.	4.970	liq.	col.n.	853	liq.	0	15	15
15 mai 1896, ∞. **17 mai 1896, liq.**	1 0/0	∞	liq.	—	col.n.	∞	liq.	col.n.	∞	liq.	col.n.	1.117	liq.	col.n.	752	liq.	0	194	liq.	0	0	0
24 heures..............	2 0/0	∞	liq. 3 j.	—	col.n.	∞	liq.	col.n.	2.287	liq.	col.n.	249	liq.	0	206	liq.	0	42	liq.	0	0	0
16 mai 1896, ∞. **17 mai 1896, liq.**	5 0/0 10 0/0	col.n. col.n.	6.264 2.519	liq. liq.	col.n. 0	1.913 573	liq. liq.	col.n. 0	391 126	liq. liq.	col.n. col.n.	153 85	liq. liq.	0 0	49 13	liq. liq.	0 0	18 7	22 13	0 0	0 0	0 0

(78)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie).
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus.

Milieu de culture : Pomme de terre.
Date : 8 mai 1896.

T. 21°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	5	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	627	liq.	—	541	liq.	—	115	liq.	—	18	liq.	—	0	0	0	0	0	0
10 mai 1896, ∞. 12 mai 1896, liq.	1 0/0	1.587	liq.	—	129	liq.	—	90	liq.	—	136	liq.	—	6	6	liq.	0	0	0	0	0	0
24 heures.............																						
11 mai 1896, ∞. 13 mai 1896, liq.																						

(79)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie).
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 11 mai 1896.

T. 21°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	5	2	4	5	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	413	liq.	—	429	liq.	—	147	liq.	—	63	liq.	—	0	7	7	0	0	0
13 mai 1896, ∞. 15 mai 1896, liq.	1 0/0	1.211	liq.	—	378	liq.	—	262	liq.	—	168	liq	—	14	16	liq.	0	0	0	0	0	0
24 heures.............																						
14 mai 1896, ∞. 16 mai 1896, liq.																						

(80)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et C[ie]). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 20°.
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus. | *Date* : 15 mai 1896. | A. m

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	4.300	liq.	—	289	liq.	—	157	liq.	—	83	liq.	—	c. n.	25	liq.	0	3	4	0	0	0
17 mai 1896, ∞. 19 mai 1896, liq.	1 0/0	927	liq.	—	115	liq.	—	76	liq.	—	42	40	liq.	0	3	3	0	0	0	0	0	0
24 heures.............																						
18 mai 1896, ∞. 20 mai 1896, liq.																						

(81)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 20°.
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus. | *Date* : 9 mai 1896. | A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/3 0/0	109	111	liq.	133	sans aug.	liq.	91	sans aug.	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11 mai 1896, 3.510 col. 13 mai 1896, liq.																						
24 heures.............																						
12 mai 1896, 2.450 col. 14 mai 1896, liq.																						

(82)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt). | *Milieu de culture* : Agar. T. 21°.
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus. | *Date* : 12 mai 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/3 0/0	167	193	liq.	94	117	liq.	col.n.	85	liq.	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14 mai 1896, 4.800 col. 16 mai 1896, liq.																						
24 heures.............																						
15 mai 1896, 3.057 col. 17 mai 1896, liq.																						

(83)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt). | *Milieu de culture* : Agar. T. 21°.
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus. | *Date* : 15 mai 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/3 0/0	289	316	liq.	148	153	liq.	13	69	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17 mai 1896, ∞. 19 mai 1896, liq.																						
24 heures.............																						
18 mai 1896, ∞. 20 mai 1896, liq.																						

(84)

Désinfectant : Acide ratanhiatannique (Haaf).
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 11 mai 1896.

T. 21°,5.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4
5 minutes...........	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	3.910	liq.	col.n.	3.084	liq.	c. n.	2.157	liq.	col.n.	1.270	liq.	col.n.	726	liq.
13 mai 1896, ∞. 15 mai 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	2.753	liq.	col.n.	2.512	liq.	c. n.	1.753	liq.	col.n.	987	liq.	col.n.	348	liq.
24 heures.............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	2.481	liq.	col.n.	2.136	liq.	c. n.	1.709	liq.	col.n.	564	liq.	col.n.	190	217
14 mai 1896, 12.500 col. 16 mai 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	col.n.	6.428	liq.	col.n.	1.867	liq.	col.n.	1.668	liq.	c. n.	1.424	liq.	col.n.	511	liq.	0	56	95
	10 0/0	col.n.	5.900	liq.	col.n.	4.319	liq.	col.n.	1.240	liq.	col.n.	992	liq.	c. n.	865	liq.	0	93	113	0	13	48

(85)

Désinfectant : Acide ratanhiatannique (Haaf).
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 13 mai 1896.

T. 20°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	2.713	liq.	col.n.	2.248	liq.	col.n.	1.637	liq.	col.n.	929	liq.	col.n.	369	
15 mai 1896, ∞. 17 mai 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	2.185	liq.	col.n.	1.997	liq.	col.n.	1.251	liq.	col.n.	684	liq.	col n.	217	1
24 heures.............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	col.n.	1.769	liq.	col.n.	1 524	liq.	col.n.	1.263	liq.	col.n.	611	liq.	col.n.	98	98
16 mai 1896, ∞. 18 mai 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	col.n.	4.960	liq.	col.n.	1.754	liq.	col.n.	966	liq.	col.n.	846	liq.	col.n.	532	liq.	col.n.	41	47
	10 0/0	col.n.	4.800	liq.	col.n.	3.226	liq.	col.n.	1.109	liq.	col.n.	733	liq.	col.n.	590	liq.	col.n.	84	84	col.n.	9	13

(86)

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et Cie). | *Milieu de culture* : Pomme de terre. T. 20°,5.
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus. | *Date* : 8 mai 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	2.159	liq.	—	984	liq.	—	830	liq.	—	399	liq.	—	0	0	0
10 mai 1896, ∞. 12 mai 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	1.738	liq.	—	486	liq.	—	152	152	liq.	126	126	liq.	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	6.136	liq.	—	3.172	liq.	—	2.841	liq.	—	727	liq.	—	940	liq.	—	0	0	0	0	0	0
11 mai 1896, ∞. 13 mai 1896, liq.	5 0/0 10 0/0	5.796 183	liq. 183	— —	2.953 24	liq. 49	— 49	1.296 9	liq. 9	— 9	528 15	liq. 15	— 15	481 17	liq. 17	— 17	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0

(87)

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et Cie). | *Milieu de culture* : Agar. T. 20°,50.
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus. | *Date* : 12 mai 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	7.402	liq.	—	4.110	liq.	—	719	liq.	—	328	liq.	—	270	liq.	—	110	116	liq.	0	0	0
14 mai 1896, 15.000 col. 16 mai 1896, liq.	1 0/0	5.125	liq.	—	2.336	liq.	—	579	liq.	—	129	liq.	—	112	liq.	—	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	2.045	liq.	—	1.057	liq.	—	517	liq.	—	242	liq.	—	124	liq.	—	0	0	0	0	0	0
15 mai 1896; 11.000 col. 17 mai 1896, liq.	5 0/0 10 0/0	1.932 61	liq. 73	— liq.	984 28	liq. 28	— liq.	432 13	liq. 14	— liq.	137 5	liq. 5	— 5	12 0	24 0	ram. 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et Cie). | *Milieu de culture* : Agar. T. 20°.
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus. | *Date* : 16 mai 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	3.714	liq.	—	2.063	liq.	—	360	liq.	—	135	liq.	—	col.n.	68	liq.	0	0	0	0	0	0
18 mai 1896, ∞. 20 mai 1896, liq.	1 0/0	2.610	liq.	—	1.117	liq.	—	289	liq.	—	92	106	liq.	col.n.	25	liq.	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	1.022	liq.	—	524	liq.	—	307	liq.	—	87	87	liq.	0	0	9	0	0	0	0	0	0
19 mai 1896, ∞. 21 mai 1896, liq.	5 0/0	811	liq.	—	495	liq.	—	216	liq.	—	83	85	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	23	38	liq.	3	17	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Désinfectant : Extr. de ratanhia (Ph. Helv.). | *Milieu de culture* : Agar. T. 21°.
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus. | *Date* : 8 mai 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6
5 minutes.............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	6.145	liq.	—
10 mai 1896, ∞. 12 mai 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	4.785	liq.	—
24 heures.............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	9.328	liq.	—	3.162	liq.	—
11 mai 1896, ∞. 13 mai 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	7.563	liq.	—	2.259	liq.	—

(90)

Désinfectant : Extr. de ratanhia (Ph. Helv.).
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 11 mai 1896.

T. 21°,5.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	4	2	3	4
5 minutes..............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq	—	∞	liq	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	∞	liq.	c. n.	4.213	liq.
13 mai 1896, ∞. 15 mai 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	∞	liq.	c. n.	2.650	liq.
24 heures..............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	--	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	7.305	liq.	c. n.	1.681	liq.
14 mai 1896, ∞. 16 mai 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	5.439	liq.	c. n.	1.274	liq.

(91)

Désinfectant : Résine Kino (Gehe et Cie).
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 9 mai 1896.

T. 20°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	5
5 minutes..............	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	7.105	liq.	—	c. n.	1.425	liq.
11 mai 1896, ∞. 13 mai 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	5.914	liq.	—	c. n.	939	liq.
24 heures..............	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	3.923	liq.	—	c. n.	687	liq.
12 mai 1896, ∞. 14 mai 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	1.854	liq.	—	c. n.	526	liq.

Désinfectant : Résine Kino (Gehe et C[ie]).
Microbe : Cocco Bac. prodigiosus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 12 mai 1896.

T. 21°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	6	2	3	4	2	3	5
5 minutes	1/2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	4.820	liq.	c. n.	951	liq.
14 mai 1896, ∞. 16 mai 1896, liq.	1 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	4.119	liq.	c. n.	728	liq.
24 heures	2 0/0	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	2.384	liq.	c. n.	447	liq.
15 mai 1896, ∞. 17 mai 1896, liq.	5 0/0	∞	liq.	—	∞	iiq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	∞	liq.	—	c. n.	1.973	liq.	c. n.	368	liq.

Observations

Très grande différence entre le minimum et le maximum d'action, ainsi que nous le témoigne le graphique.

1° L'*acide aspidospertannique* tient de nouveau le premier rang : son action bactéricide étant énergique à partir de 2,5 et 10 0/0; 2° puis l'*acide kinotannique;* 3° l'*acide cafétannique* agit mieux que le tannin officinal qui donne encore des colonies au bout de deux heures, tandis que l'acide cafétannique n'en donne plus dans cet espace de temps; 4° le *tannin;* 5° l'*acide gallique;* 6° l'*acide catéchutannique ;* pas de différence entre l'acide ratanhiatannique, l'extrait de ratanhia et le kino.

Un des points nouveaux à signaler à propos de cette série d'expériences est le suivant : Le cocco bacillus prodigiosus perd rapidement sa matière colorante, à tel point que les cultures dont nous nous sommes servi étaient blanches; quelle n'a pas été notre surprise de voir que, sous l'action de l'acide cafétannique, notre microbe, dans les colonies non détruites par ce tannin, se sont développées de nouveau d'un rose timide au début, puis d'un rose nettement accentué, pour enfin devenir d'un rouge sang caractéristique.

Ce phénomène nous a paru intéressant à relater.

(93)

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 29 avril 1896.

T. 20°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	0	323	397	0	8	54	0	16	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1er mai 1896, col. naiss. 2 mai 1896, ∞. 4 mai 1896, liq.	1 0/0	0	0	2	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 mai 1896, col. naiss. 3 mai 1896, ∞.	5 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 mai 1896, liquéf.	10 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(94)

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 2 mai 1896.

T. 18°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	0	470	470	0	12	37	0	4	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4 mai 1896, 11.600 col. 6 mai 1896, liq.	1 0/0	0	53	59	0	7	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 mai 1896, 8.300 col.	5 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8 mai 1896, liq.	10 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(95)

Désinfectant : Acide aspidospertannique (*G. G. fecit*). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 19°,5.
Microbe : Staphyloc. aureus. | *Date* : 4 mai 1896. | P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	0	col.n.	127	0	0	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 mai 1896, 6.723 col. 8 mai 1896, liq.	1 0/0	0	col.n.	8	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7 mai 1896, 4.872 col. 9 mai 1896, liq.	5 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(96)

Désinfectant : Acide cafétannique (Merck). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 20°,5.
Microbe : Staphyloc. aureus. | *Date* : 29 avril 1896. | A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	col.n.	∞	liq.	col.n.	4.729	liq.	col.n.	4.018	liq.	41	716	liq.	0	230	ram.	0	0	0	0	0	0
1er mai 1896, colon. naiss. 2 mai 1896, ∞. 3 mai 1896, ram.	1 0/0	col n.	∞	liq.	col.n.	3.851	liq.	0	680	liq.	0	129	liq.	0	61	ram.	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	col.n.	5.312	liq.	0	1.900	liq.	0	491	liq.	0	87	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1er mai 1896, colon. naiss. 2 mai 1896, 7.615. 3 mai 1896, ram.	5 0/0	col.n.	2.507	liq.	0	470	liq.	0	37	37	0	12	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(97)

Désinfectant: Acide cafétannique (Merck). | *Milieu de culture*: Agar. T. 19°.

Microbe: Staphyloc. aureus. | *Date*: 1er mai 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	col.n.	4.121	liq.	col.n.	1.870	liq.	col.n.	918	liq.	col.n.	210	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 mai 1896, ∞. 5 mai 1896, liq.	1 0/0	col.n.	3.650	liq.	col.n.	1.413	liq.	col.n.	242	liq.	0	87	91	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	col.n.	2.473	liq.	col.n.	856	liq.	col.n.	337	liq.	0	41	53	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4 mai 1896, ∞.	5 0/0	col.n.	928	liq.	col.n.	119	liq.	col.n.	18	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 mai 1896, liq.	10 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(98)

Désinfectant: Acide cafétannique (Merck). | *Milieu de culture*: Agar. T. 19°.

Microbe: Staphyloc. aureus. | *Date*: 4 mai 1896. A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	4	2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	2.925	liq.	—	col.n.	914	liq.	col.n.	253	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 mai 1896, 4.661 col. 8 mai 1896, liq.	1 0/0	2.240	liq.	—	col.n.	687	liq.	col.n.	61	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	1.873	liq.	—	col.n.	349	liq.	col.n.	28	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7 mai 1896, 3.130 col	5 0/0	612	675	liq.	col.n.	86	91	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9 mai 1896, liq.	10 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(99)

Désinfectant : Acide catéchutannique (Merck). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 18°.
Microbe : Staphyloc. aureus. | *Date* : 30 avril 1896. | P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes..............	1/2 0/0	col.n.	7.503	ram.	1	926	ram.	0	673	ram.	0	180	180	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 mai 1896, ∞. 4 mai 1896, liq.	1 0/0	col.n.	3.429	ram.	0	310	ram.	0	122	ram.	0	99	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	col.n.	1.441	ram.	0	381	ram.	0	530	ram.	0	93	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 mai 1896, ∞. 5 mai 1896, liq.	5 0/0 10 0/0	col.n. 0	1.107 0	ram. 0	0 0	420 0	420 0	0 0	0 0	0 0		0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0

Observation : La liquéfaction de la gélatine a paru retardée à 1 et à 2 0/0 à 60 m. Les colonies, le 6ᵉ jour, n'avaient subi aucun changement.

(100)

Désinfectant : Acide catéchutannique (Merck). | *Milieu de culture* : Agar. | T. 20°.
Microbe : Staphyloc. aureus. | *Date* : 7 mai 1896. | A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes..............	1/2 0/0	3.845	ram.	liq.	col.n.	351	liq.	col.n.	146	ram.	col.n.	38	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9 mai 1896, ∞. 11 mai 1896, liq.	1 0/0	col.n.	1.112	liq.	0	187	ram.	0	79	id.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	col.n.	574	liq.	0	92	id.	0	63	id.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10 mai 1896, ∞. 12 mai 1896, liq.	5 0/0 10 0/0	col.n. 0	168 0	ram. 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0

(101)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 28 avril 1896.

T. 19°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	c. n.	1.233	liq.	83	88	liq.	58	63	liq.	4	4	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30 avril, col. nais. 1er mai, ∞. 4 mai, liq.	1 0/0	c. n.	978	liq.	25	liq.	—	67	liq.	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures																						
1er mai, col. naiss. 2 mai, ∞. 5 mai, liq.																						

(102)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 1er mai 1896.

T. 19°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	c. n.	912	liq.	c. n.	235	liq.	63	81	liq.	4	12	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 mai, ∞. 5 mai, liq.	1 0/0	c. n.	474	liq.	c. n.	168	liq.	27	39	liq.	0	5	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures																						
4 mai, ∞. 6 mai, liq.																						

(103)

Désinfectant : Acide gallique (Gehe et Cie).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 5 mai 1896.

T. 18°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	3	5	2	3	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/2 0/0	c. n.	1.617	liq.	c. n.	186	ram.	c. n.	154	ram.	0	53	ram.	0	2	2	0	0	0	0	0	0
7 mai 1896, ∞. 9 mai 1896, liq.	1 0/0	c. n.	1.130	liq.	c. n.	94	ram.	c. n.	101	ram.	0	14	ram.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures																						
8 mai 1896, 10.800 col. 10 mai 1896, liq.																						

(104)

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 30 avril 1896.

T. 18°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes	1/3 0/0	2	57	liq.	8	20	liq.	0	0	0	0	0	0	5	11	liq.	0	0	0	0	0	0
2 mai 1896, ∞. 4 mai 1896, liq.																						
24 heures																						
2 mai 1896, inn.moins cep. 5 mai 1896, liq.																						

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt). | *Milieu de culture* : Agar. T. 18°,5.
Microbe : Staphyloc. aureus. | *Date* : 3 mai 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes..	1/3 0/0	col.n.	128	liq.	col.n.	89	liq.	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 mai 1896, ∞. 7 mai 1896, liq.																						
24 heures..............																						
6 mai 1896, ∞. 8 mai 1896, liq.																						

Désinfectant : Acide kinotannique (Schuchardt). | *Milieu de culture* : Agar. T. 19°.
Microbe : Staphyloc. aureus. | *Date* : 6 mai 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes..............	1/3 0/0	col.n.	287	liq.	col.n.	119	liq.	0	23	ram.	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8 mai 1896, ∞. 10 mai 1896, liq.																						
24 heures..............																						
9 mai 1896, ∞. Col. moins sérrées. 11 mai 1896, liq.																						

Désinfec ant : Acide ratanhiatannique (Haaf).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 2 mai 1896.

T. 20°,5.
P. m.

(107)

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	col.n.	5.220	liq.	col.n.	2.164	liq.	col.n.	1.557	liq.	col.n.	638	liq.	0	96	ram.	0	0	0	0	0	0
4 mai 1896, ∞. 6 mai 1896, liq.	1 0/0	col.n.	4.183	liq.	col.n.	1.729	liq.	col.n.	609	liq.	col.n.	125	liq.	0	40	ram.	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	col.n.	2.956	liq.	col.n.	988	liq.	col.n.	414	liq.	col.n.	87	93		6	8	0	0	0	0	0	0
5 mai 1896, ∞. 7 mai 1896, liq.	5 0/0	col.n.	627	liq.	col.n.	453	liq.	col.n.	235	liq.	col.n.	43	61	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	col.n.	168	liq.	col.n.	142	liq.	col.n.	91	ram.	0	8	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Désinfectant : Acide ratanhiatannique (Haaf).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 5 mai 1896.

T. 18°,50.
P. m.

(108)

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	col.n.	3.410	liq.	col.n.	1.936	liq.	col.n.	629	liq.	col.n.	213	ram.	0	30	37	0	0	0	0	0	0
7 mai 1896, 7.400 col. 9 mai 1896, liq.	1 0/0	col.n.	2.726	liq.	col.n.	1.509	liq.	col.n.	415	liq.	col n.	218	ram.	0	14	22	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	col.n.	1.864	liq.	col.n.	564	liq.	col.n.	348	liq.	col.n.	83	ram.	0	3	14	0	0	0	0	0	0
8 mai 1896, 5.870 col. 10 mai 1896, liq.	5 0/0	col.n.	419	liq.	col.n.	328	liq.	col.n.	117	122	0	52	67	0	0	3	0	0	0	0	0	0
	10 0/0	col.n.	127	ram.	col.n.	133	ram.	col.n.	66	75	0	19	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(109)

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et Cie).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 18 avril 1897.

T. 18°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	0	600	1.243	0	0	38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30 avril, ∞. 3 mai, ramollissement. 4 mai, liq.	1 0/0	0	0	123	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1er mai, 12.000 colon. 2 mai, ramollissement. 5 mai, liq.	5 0/0 10 0/0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0

(110)

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et Cie).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 3 mai 1896.

T. 18°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/3 0/0	col.n.	201	201	0	8	8	0	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 mai 1896, ∞. 7 mai 1896, liq.	1 0/0	col.n.	159	159	0	0	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	0	4	6	0	5	7	0	3	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 mai 1896, ∞. 8 mai 1896, liq.	5 0/0 10 0/0	0 0	5 2	11 2	0 0	0 0	0 0	0 0	3 0	3 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0

(111)

Désinfectant : Acide tannique (Gehe et Cie).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 6 mai 1896.

T. 19°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes............	1/2 0/0	0	320	417	0	41	sans aug.	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8 mai 1896, ∞. 10 mai 1896, liq.	1 0/0	0	48	63	0	7	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures............	2 0/0	0	2	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9 mai 1896, ∞.	5 0/0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11 mai 1896, liq.	10 0/0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(112)

Désinfectant : Extr. de ratanhia (Ph. Helv.).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 28 avril 1896.

T. 19°.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	4	2	4	4	2	3	4	2	3	4	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes............	1/2 0/0	512	568	liq.	397	431	liq.	175	210	liq.	115	129	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30 avril 1896, ∞. 3 mai 1896, liq.	1 0/0	330	411	liq.	282	316	liq.	114	sans aug.	liq.	82	91	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures............	2 0/0	194	sans aug.	liq.	126	148	liq.	99	id.	liq.	37	sans aug.	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1er mai, ∞. 4 mai, liq.	5 0/0	88	id.	liq.	69	73	liq.	16	id.	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(113)

Désinfectant : Extr. de ratanhia (Ph. Helv.).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 1er mai 1896.

T. 19°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	214	364	liq.	163	163	liq.	92	92	liq.	67	98	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 mai 1896, ∞. 5 mai 1896, liq.	1 0/0	428	liq.	—	130	liq.	—	53	53	liq.	90	90	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	187	liq.	—	104	liq.	—	31	49	liq.	89	104	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4 mai 1896, ∞. 6 mai 1896, liq.	5 0/0	253	253	liq.	40	62	ram.	87	87	liq.	55	55	liq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(114)

Désinfectant : Extr. de ratanhia (Ph. Helv.).
Microbe : Staphyloc. aureus.

Milieu de culture : Agar.
Date : 5 mai 1896.

T. 18°.
A. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	col.n.	193	219	col.n.	102	183	col.n.	98	sans aug.	col.n.	71	sans aug.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7 mai 1896, ∞. 9 mai 1896, liq.	1 0/0	col.n.	117	160	col.n.	83	86	col.n.	44	id.	col.n.	42	id.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	col.n.	84	113	col.n.	79	sans aug.	col.n.	59	id.	col.n.	26	id.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8 mai 1896, 9.200 col. 10 mai 1896, liq.	5 0/0	col.n.	96	sans aug.	col.n.	38	id.	col.n.	9	id.	0	0	id.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(115)

Désinfectant: Résine de Kino (Gehe et Cie).
Microbe: Staphyloc. aureus.

Milieu de culture: Agar.
Date: 30 avril 1896.

T. 19°.
A.m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	2.007	liq.	—	1.581	liq.	—	693	liq.	—	587	liq.	—	410	liq.	—	0	209	liq.	0	0	0
2 mai 1896, 9.083 col. 4 mai 1896, liq.	1 0/0	1.823	liq.	—	780	liq.	—	336	liq.	—	994	liq.	—	63	227	liq.	0	171	liq.	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	856	liq.	—	910	liq.	—	541	liq.	—	130	liq.	—	287	liq.	—	0	48	liq.	0	0	0
3 mai 1896, 7.632 col. 5 mai 1895, liq.	5 0/0	1.372	liq.	—	625	liq.	—	215	liq.	—	168	liq.	—	4	198	liq.	0	7	ram.	0	0	0

(116)

Désinfectant: Résine de Kino (Gehe et Cie).
Microbe: Staphyloc. aureus.

Milieu de culture: Agar.
Date: 3 mai 1896.

T. 18°,5.
P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	4	6	2	4	6	2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	1.516	liq.	—	1.154	liq.	—	col.n.	458	liq.	col.n.	297	liq.	0	19	68	0	0	12	0	0	0
5 mai 1896, 6.300 col. 7 mai 1896, liq.	1 0/0	1.693	liq.	—	836	liq.	—	col.n.	411	liq.	col.n.	148	liq.	0	3	24	0	0	0	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	648	liq.	—	312	liq.	—	col.n.	206	liq.	col.n.	91	ram.	0	9	17	0	0	0	0	0	0
6 mai 1896, 9.300 col. 8 mai 1896, liq.	5 0/0	522	liq.	—	297	liq.	—	col.n.	63	ram.	col.n.	29	ram.	0	0	11	0	0	0	0	0	0

Désinfectant : Résine de Kino (Gehe et C[ie]). | *Milieu de culture* : Agar. T. 19°,5.
Microbe : Staphyloc. aureus. | *Date* : 6 mai 1896. P. m.

CONTROLE	SOLUTION titrée	2 minutes Nombre de colonies en jours			15 minutes Nombre de colonies en jours			30 minutes Nombre de colonies en jours			60 minutes Nombre de colonies en jours			2 heures Nombre de colonies en jours			4 heures Nombre de colonies en jours			24 heures Nombre de colonies en jours		
		2	3	6	2	4	5	2	4	5	2	4	5	2	4	6	2	4	6	2	4	6
5 minutes.............	1/2 0/0	1.711	liq.	—	col.n.	1.236	liq.	col.n.	549	liq.	col.n.	310	liq.	col.n.	63	87	0	1	1	0	0	0
8 mai 1896, 7.450 col. 10 mai 1896, liq.	1 0/0	1.758	liq.	—	col.n.	920	liq.	col.n.	355	liq.	col.n.	82	ram.	col.n.	59	sans aug.	0	0	3	0	0	0
24 heures.............	2 0/0	773	liq.	—	col.n.	417	liq.	col.n.	298	liq.	col.n.	78	ram.	0	20	23	0	0	0	0	0	0
9 mai 1896, 5.600 col. 11 mai 1896, liq.	5 0/0	619	liq.	—	col.n.	128	liq.	0	41	ram.	0	3	5	0	3	4	0	0	0	0	0	0
	10 0/0																					

Observations

Le Staphylococcus aureus est le microbe le plus sensible aux tannins et, par ce fait, ils mériteront d'être pris en considération. Par ordre d'action nous pouvons les classer ainsi :

Acide aspidospertannique,
— *kinotannique*,
— *tannique*,
— *catéchutannique*,
— *cafétannique*,
— *gallique*,
et l'*extrait de ratanhia*,

qui agissent pour ainsi dire à force égale.

Le fait que l'acide ratanhiatannique a agi moins énergiquement que l'extrait de ratanhia est pour nous un point inexplicable.

INDICATIONS CONCERNANT LE GRAPHIQUE

Le trait *pointillé* ------- indique que la solution n'a eu aucune action sur les microbes dans l'espace de 24 heures.

Le trait plein *mince* ——— indique l'action bactéricide *minimum*.

Le trait plein *large* ▬▬▬ indique l'action bactéricide *maximum*.

Les traits pointillés et minces réunis ------ indiquent :

1° Le trait pointillé indique que, dans un cas, la solution tannante n'a pas eu d'action bactéricide ;

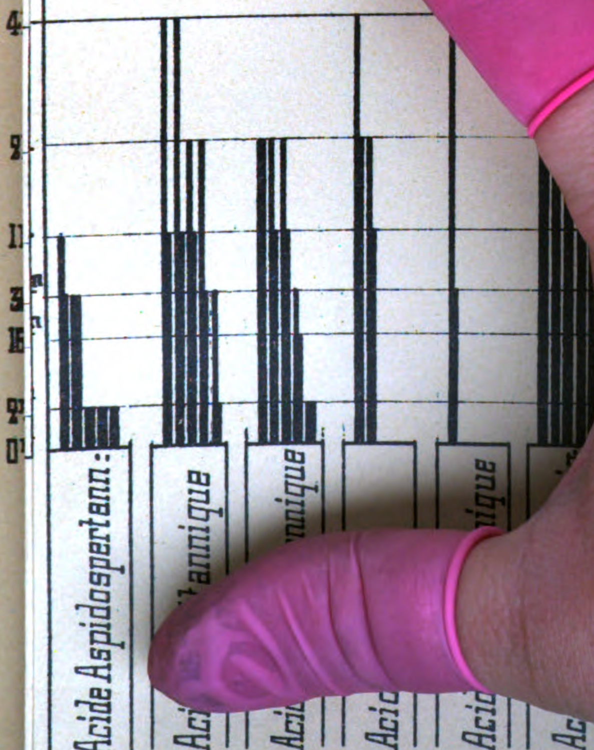
2° Le trait plein mince indique le maximum de l'action produite.

h signifie heure, *m* signifie minute.

Staphylococcus Aureus

Solutions titrées à : %

½ 1.2.5.10	½ 1.2.5.10	½ 1.2.5.10	½ 1.	½	½ 1.2.5.10	½ 1.2.5.10	½ 1.2.5.	½ 1.2.5.



CHAPITRE VI

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES ET PROPRIÉTÉS THÉRAPEUTIQUES

Les ratanhias, kinos et cachous sont depuis longtemps préconisés dans certaines affections buccales, uréthrales et gastro-intestinales ; leur action curative était seulement attribuée à leur astringence, il a fallu se rendre à l'évidence qu'il y avait plus, et c'est ce qui nous a décidé à reprendre à ce point de vue l'étude de leur action désinfectante sur le tube gastro-intestinal.

La désinfection des voies digestives et les causes pouvant engendrer la présence de tels ou tels germes dans le tube gastro-intestinal ont donné lieu à des travaux importants. Le cadre que nous nous sommes imposé ne nous permet pas de reprendre (*ab OVO*) la question, mais simplement de connaître combien les divers tannins peuvent agir sur la flore microbienne prise dans son ensemble.

Comme nos recherches *in vitro* s'adressaient à quelques germes spéciaux, nous avons dû nous convaincre que leur présence était normalement constatée dans le tube gastro-intestinal par les divers auteurs qui se sont occupés de la question.

Les microbes parviennent à l'estomac par deux voies différentes, par l'air et par les produits de la nutrition ; tandis que ceux amenés par l'air peuvent nous laisser indifférents à ce point de vue, ceux parvenant à l'estomac par la seconde voie sont des hôtes fréquents des cavités nasales et buccales.

Tandis que Van Besser (1) signala, comme microbes pathogènes des fosses nasales, le pneumocoque, le Staphylococcus aureus et albus et le pneumo-bacille de Fried-

(1) Van Besser, Ueber die Bakterien der normalen Luftwege. *Zieglers Beiträge zur Pathol. Anatomie und zur allgem. Pathol.*, Band VI, Heft 4, 1889

länder, de Paulsen (1), au contraire, ne mentionne pas le Staphylococcus aureus ni le bacille de Friedlander, ce qui confirmerait les travaux de Wurtz et de Lamagnez qui prétendent que le mucus nasal à l'état normal agit comme bactéricide. Survienne un trouble physiologique, aussitôt le mucus deviendra un milieu de culture excellent.

Les microbes de la cavité buccale ont fourni de nombreux matériaux de recherches à Miller (2), qui réduisit à 22 espèces principales les différentes catégories de microbes vivant dans ce milieu, nombre fixé précédemment à plus d'une centaine. Vignal (3) en isola 17 espèces; son travail, qui est une étude approfondie des microorganismes de la cavité buccale, constate également la présence du Staphylococcus aureus; enfin, David (4), en 1890, dans son mémoire sur les microbes de la bouche, a établi une classification précise des microbes de la cavité buccale, tout en étudiant chaque cas particulier. Babès cite que le staphylococcus aureus est une des causes des infections salivaires, et dans ses recherches il a constaté sa présence comme des plus fréquentes. Tandis qu'il a rencontré le bacille de Friedländer une fois, le Micrococcus tetragenus une fois, le Staphylococcus albus deux fois, le Staphylococcus aureus s'est rencontré seize fois. Le Dr I. Dallemagne (5), dans son intéressant travail sur les microbes du tube gastro-intestinal des cadavres, appuie sur le fait que deux grands facteurs sont nécessaires dans toute maladie infectieuse :

1° Un germe pathogène plus ou moins virulent;

2° Un terrain plus ou moins apte à le recevoir et à le nourrir.

De là deux grandes méthodes thérapeutiques :

a) Rendre le terrain réfractaire à l'infection;

---

(1) de Paulsen, Micro-organ. in der gesunden Nasenhöhle und bei akuten Schnupfen. *Centralblatt für Bakt.*, Band 8, 1890, page 344.

(2) Miller, Ueber Gährungsvorgänge im Verdau ungstract und die dabei betheiligten Spaltpilz. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1885, 49, pages 843-846.

(3) Vignal, Recherches sur les microbes de la bouche. *Archiv. de physiologie normale et patholog.*, 1887, vol. X, page 319.

(4) David, *Les microbes de la bouche*. Paris, 1890.

(5) Dr I. Dallemagne, Microbes du tube gastro-intestinal des cadavres. *Archiv. de médecine expérim. et de pathologie*, mars 1895.

b) Détruire le germe pathogène ou, du moins, l'atténuer.

Puisque nous savons que beaucoup de germes vivent à l'état de saprophytes dans les cavités du corps et que ces mêmes germes d'inoffensifs peuvent devenir virulents, il ne faut point négliger de recourir à toutes les substances qui sauront ralentir et diminuer le développement des micro-organismes. Nos recherches peuvent donc servir de contribution dans ce sens.

On retrouve dans l'estomac, d'après Miller (1), 8 des formes microbiennes signalées dans la bouche, mais c'est surtout à de Barry, van Puteren (2) et Abelous (3) que nous devons d'être fixés par une classification nette et précise sur les micro-organismes des voies stomacales. Abelous parvint à séparer 16 espèces, dont 7 connues, soit :

Sarcina ventriculi, Bacillus amylobacter, Bacillus megaterium, Bacillus pyocyaneus, Bacterium lactis aerogenes, Bacillus subtilis, Vibrio regula ; les autres ne furent dénommés qu'à l'aide de lettres de l'alphabet.

Nous passerons sous silence toutes les recherches dans le but d'élucider la question de l'action bactéricide du suc gastrique qui a si vivement préoccupé les bactériologistes, question inaugurée par l'école allemande, grâce aux travaux de Falk (4), il y a déjà dix ans. Vignal (5), Franck, Abelous (6), Strauss et Wurtz (7) ont apporté quelque lumière sur ce sujet.

L'analyse bactériologique des matières fécales a préoccupé un grand nombre d'observateurs, et ceci à deux points de vue surtout :

Tandis que Vignal s'est appliqué à connaître la teneur

---

(1) Miller, Thehuman mouth as a focus of infection. *Centralblatt für Bacter. und Parasitenkunde*, Bd XII, 1892, page 380.

(2) Van Puteren, Ueber die Microorganismen im Magen von Jünglinge. *Zeitschrift für Microsc.*, page 539.

(3) Abelous, *Recherches sur les microbes de l'estomac à l'état normal.* Thèse Montpellier, 1889.

(4) Falk, Uber das Verhalten von Infections stoffen im Verdaungskanäle. *Wirchow's archiv*, Bd XCIII, 1883, page 144.

(5) Vignal, Recherches sur les microorganismes des matières fécales et sur leur action sur les substances alimentaires. *Archiv. de physiologie*, 1887.

(6) Abelous, *Recherches sur les microbes de l'estomac.* Thèse Montpellier, nos 1 à 3, page 370.

(7) Strauss et Wurtz. De l'action du suc gastrique sur quelques microbes pathogènes. *Arch. de méd. exp.*, 1889, p. 370.

microbienne des selles normales, d'autres, tels que Bienstock (1), ont examiné les selles au point de vue des germes pathogènes qui pouvaient être la cause déterminante d'affections gastro-intestinales. Ce savant isola cinq espèces de bacilles, dont deux seuls peuvent être considérés comme classés : ce sont le bacille de la pomme de terre et le Bacillus putrificus coli. C'est à Escherich que nous devons de connaître le rôle et l'importance du bacterium lactis aerogenes et du Bacillus coli commune. Sucksdorf (2) attire notre attention surtout sur le nombre des colonies que peuvent contenir proportionnellement les matières fécales dans diverses conditions. Il attribue les grandes variations dans le nombre des colonies au changement de régime.

Il paraît que la flore microbienne du canal alimentaire s'épuise au fur et à mesure qu'on se rapproche de l'orifice anal. Gilbert et Dominicé (3), dans leurs expériences sur le chien, affirment avec preuves indubitables, qu'il y a réduction des germes s'opérant dans le tube digestif de l'estomac vers le rectum, toutefois avec relèvement de la courbe dans l'intestin grêle, ce qui coïncide pleinement avec la faible puissance bactéricide des sucs de cette partie du canal alimentaire. Mills (4) et Kaupe ont démontré, comme particulièrement fondée la réduction progressive des microbes dans les matières fécales.

Tous les auteurs sont d'accord sur l'utilité de la désinfection du canal intestinal; car ce n'est pas seulement par le développement local que ces microbes constituent un danger pour l'organisme, ils peuvent émigrer, être entraînés dans des cavités ou organes voisins et amener des accidents graves. MM. les Professeurs Tavel et Kocher (5) ont cité, par exemple, plusieurs cas de résorption par les muqueuses de l'intestin et amenant des strumites ; de là leur foi absolue dans la désinfection du canal intestinal.

---

(1) Bienstock, Ueber die Bakterien der Faeces. *Fortsch. der Med.*, 1883, page 609.

(2) Sucksdorf, *Archiv. für Hygiene*, Bd. IV, pages 368-388.

(3) Gilbert et Dominicé, *Bull. Soc. biolog.*, 1894, 16 février, p. 117.

(4) Mills, *De l'étiologie parasitaire des affections cholériformes*. Bruxelles, 1894, pages 5 à 120.

(5) *Ueber die Aetiologie der Strumitis*, von Dr E. Tavel. — Carl Sallmann, Basel, 1892.

CHAPITRE VII

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

Nos recherches ont porté sur deux points :

A. Action des tannins à doses diverses et à intervalles réguliers, sur l'état général du sujet pendant l'action du remède. Comme point de repère objectif et pour nous renseigner sur l'état général, nous avons fait des pesées à intervalles réguliers ;

B. Action bactéricide proprement dite sur les produits de la digestion déterminée par la méthode des plaques faites avec une quantité toujours égale d'excrément.

MODE OPÉRATOIRE ADOPTÉ

Le lapin strictement isolé, et dont le poids initial a été pris le jour de son entrée en observation, a reçu la substance tannante le matin, soit par l'intermédiaire de la sonde stomacale, soit en introduisant la substance dans une pâtée de son; dans ce dernier cas, aucune nourriture ne lui a été donnée jusqu'à complète absorption de a pâtée.

La nourriture, pendant tout le traitement, a été mixte, son et herbe, et non limitée.

La niche a été soigneusement nettoyée chaque matin avant l'introduction de la substance. Les pétoles ont été recueillies à diverses heures de la journée.

Nous avons pris $0^{gr},01$ d'excrément émulsionné dans 10 centimètres cubes d'eau stérilisée, dont 1 centimètre cube seulement a servi par plaque de Pétri, afin d'éviter des débris végétaux qui auraient entravé la numération des colonies. Les recherches ont donc porté sur 1 milligramme d'excrément de lapin.

OBSERVATIONS

A

Ingestion des tannins à doses diverses et à intervalles réguliers, permettant de nous fixer sur l'état général du sujet pendant l'action du remède.

Nos observations, en ce qui concerne ce premier point, peuvent se diviser en deux :

A′, concernant le poids du sujet ;

A″, concernant l'état pathologique du sujet.

A′

Les tannins, selon leur provenance et leurs doses administrées, ont une influence très spéciale sur les lapins.

Dans la série I	Nous constatons une diminution de poids très rapide pour le lapin I, résultat dû à l'action produite par l'acide aspidospertannique : au 10e jour, le lapin a perdu 1/4 de son poids initial, soit 500 grammes. Pour l'acide kinotannique la diminution est forte aussi après la première dose, ensuite le poids reste stationnaire pour remonter un peu vers le 10e jour. Au contraire, augmentation de poids des lapins dès le début avec les acides gallique et tannique.
Dans la série II	La diminution du poids est moins prononcée pour les acides aspidospertannique et kinotannique, et l'augmentation plus régulière avec les acides gallique et tannique.
Dans la série III	L'action est quasi-nulle comme effet : il y a plutôt augmentation de poids avec l'acide aspidospertannique, poids invariable pour ainsi dire pour l'acide kinotannique. Augmentation très accentuée avec les acides cafétannique, gallique, tannique.

A″

Série I	Au point de vue du bien-être général des lapins, c'est dans cette série que nous pouvons observer un changement significatif chez les lapins I et V. Diminution d'appétit plus accentuée encore chez le I. — Les pétoles diminuent en nombre, grande lassitude, soif ardente, symptômes du tanninisme, sans conséquences graves.
Séries II et III	Les sujets XI, XIII, XVI se portent bien ; du reste, l'appétit augmentant, le poids s'élève progressivement.

B

Action bactéricide proprement dite sur les produits de la digestion

Il est aisé de se rendre compte, d'après notre tableau, que l'action bactéricide des divers tannins est moins remarquable *in vivo* que *in vitro*.

Nous retrouvons cependant une certaine analogie dans leur action bactéricide.

L'acide aspidospertannique surtout, puis l'acide kinotannique viennent en tête dans les trois séries. Les acides gallique et tannique varient peu dans l'effet produit ; puis, viennent, par ordre de mérite, l'acide catéchutannique et l'acide cafétannique.

Quant à l'acide ratanhiatannique, à l'extrait de ratanhia et à la résine de kino, leur action est nulle.

Nous pouvons ajouter aux observations qui précèdent les considérations suivantes à nous suggérées par l'ensemble des recherches *in vitro* et *in vivo*.

1° Veut-on obtenir une désinfection intestinale, il faudra employer les substances actives : telles que l'acide aspidospertannique et l'acide kinotannique. Là où l'on n'aura en vue qu'une désinfection de la partie terminale du canal intestinal, il y aura tout avantage à employer la voie rectale pour administrer le remède.

2° Veut-on obtenir une action astringente, une modification du terrain, il faudra employer par voie stomacale les substances qui accusent une augmentation de poids, telles que les acides tannique, gallique, cafétannique.

3° Veut-on combiner les deux actions, il y aura lieu d'associer à doses internes les tannins dans des proportions variables. Dans tous les cas il sera plus prudent d'employer les doses intermédiaires ou journalières, de préférence aux doses massives dont l'influence sur l'état général paraît être moins favorable.

Il est certain, au point de vue thérapeutique, que ce travail n'aura une application réellement pratique que lorsque des expériences cliniques auront été réalisées. Il nous paraît indubitable que, lorsqu'un choix judicieux aura été fait parmi les nombreux tannins renfermés dans les végétaux, nous aurons lieu d'être satisfaits de nous tenir, d'une façon plus continue, sous leur influence.

CONCLUSIONS

Notre travail a nettement établi que le tannin officinal, qui est seul employé dans un certain nombre d'affections, est moins énergique que beaucoup d'autres tannins dits physiologiques qui, de par ce fait, ont leur place tout indiquée dans la thérapeutique.

Nous avons démontré par nos expériences que le Quebracho Colorado renfermait un acide tannique, soit l'acide aspidospertannique qui a une énergie bactéricide bien plus forte que celle du tannin officinal. Nous pouvons également conclure de par ce qui précède qu'il doit y avoir corrélation entre l'action bactéricide de l'acide aspidospertannique et l'action remarquablement tannante des Quebracho dans la grande industrie des cuirs.

Il nous a été permis de constater que les Kinos renferment un tannin très puissant, l'acide kinotannique, qui agit avec une sûreté beaucoup plus grande que les Kinos mêmes.

L'acide ratanhiatannique mérite d'être pris en considération, vu que son action bactéricide est démontrée sur le graphique joint au texte, notamment sur le Bacillus pyocyaneus et le Staphylococcus aureus.

Il n'est pas superflu de signaler que certains microbes sont indifférents à l'action des tannins ; que d'autres, au contraire, voient le nombre de leurs colonies diminuer rapidement, et cela selon le degré de titrage des solutions. Cette résistance à l'action bactéricide des tannins est due en tout cas en grande partie à la présence de spores ; comme exemple du premier cas, nous citerons le Bacillus anthracis, comme étant le plus rebelle d'entre ceux par nous étudiés, tandis que, comme exemple du second cas, nous voyons que le Staphylococus aureus en toute première ligne, puis immédiatement après le Bacillus pyocyaneus sont très sensibles à l'action des tannins.

Il sera très intéressant pour le chirurgien de constater la grande sensibilité du Staphylococcus aureus vis-à-vis des tannins, d'autant plus que vis-à-vis, des antiseptiques à base

de mercure, iode, etc., il est beaucoup plus résistant que les bacilles pyocyaneus, prodigiosus et coli.

Pour la première fois il a été constaté, sauf erreur, tout au moins la littérature est muette sur ce point, que le Cocco bacillus prodigiosus pouvait reprendre sa teinte propre, mis sous l'influence de l'acide cafétannique. Le fait nous a paru certainement étrange, vu que l'acide cafétannique a une action bactéricide très manifeste sur ce même microbe auquel il donne un regain de vie quant à la couleur, tandis que dans des circonstances analogues la plupart des antiseptiques agissent comme décolorants. Nous nous bornons à signaler le fait sans chercher à l'expliquer, nous réservant de continuer ultérieurement nos recherches sur ce point.

L'Éditeur-Gérant : C. NAUD.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

et Genève

00 colonies; **p** = peu, soit moins de 1.000 colo[illegible]

…QUE	ACIDE TANNIQUE N° VII. 1kg,750.				EXTRAIT D[illegible] …VIII.		…INO …00.	
Colonie	Jour	Dose	Poids	Colonie	Poids	Colonie	Jour	Colonie
		gr.	kil.					
—	1er	1,75	1,750	—	2[illegible]	[illegible]	1er	—
∞	2e	—	—	∞	[illegible]	[illegible]	2e	∞
—	3e	—	—	—	—	[illegible]	[illegible]	—
—	4e	1,75	1,771	—	2,[illegible]	[illegible]	[illegible]	—
∞	5e	—	—	∞	—	[illegible]	[illegible]	∞
—	6e	—	—	—	—	[illegible]	[illegible]	—
—	7e	1,75	1,849	—	2,21[illegible]	[illegible]	[illegible]	—
∞	8e	—	—	m	—	[illegible]	[illegible]	∞
—	9e	—	—	—	—	[illegible]	[illegible]	—
—	10e	1,75	1,897	—	[illegible]760	[illegible]	[illegible]	—
∞	11e	—	—	m	[illegible]	[illegible]	[illegible]	∞

…QUE	ACIDE TANNIQUE N° XVI. 1kg,713.				EX[illegible] N[illegible]	
Colonie	Jour	Dose	Poids	Colonie	Jour	[illegible]
		gr.	kil.			
—	1er	1,27	1,713	—	1er	1[illegible]
∞	2e	—	—	∞	2e	[illegible]
—	3e	1,27	1,750	—	3e	1[illegible]
∞	4e	—	—	∞	4e	[illegible]
—	5e	1,27	1,794	—	5e	1[illegible]
∞	6e	—	—	m	6e	[illegible]
—	7e	1,27	1,832	—	7e	1[illegible]
∞	8e	—	—	m	8e	[illegible]
—	9e	1,27	1,835	—	9e	[illegible]
∞	10e	—	—	d	10e	[illegible]

…UE	ACIDE TANNIQUE N[illegible]				[illegible]			
Colonie	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
—	[illegible]	[illegible]	2,300	—	1er	[illegible]	[illegible]	[illegible]
∞	2e	id.	2,340	∞	2e	id.	[illegible]	[illegible]
∞	3e	id.	2,390	∞	3e	id.	2,9[illegible]	[illegible]
∞	4e	id.	2,357	∞	4e	id.	2,850	[illegible]
∞	5e	id.	2,391	∞	5e	id.	2,789	∞
∞	6e	id.	2,400	∞	6e	id.	2,790	∞
∞	7e	id.	2,380	m	7e	id.	2,870	∞
∞	8e	—	2,410	m	8e	—	2,820	∞

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

ÉTUDE
D'UN
CANCER DU RECTUM A CELLULES MUQUEUSES
ÉVOLUTION PATHOLOGIQUE DU MUCUS ET THÉORIE PARASITAIRE

PAR MM.

QUENU,
Prof. agr. de la Fac. de Méd.,
chirurg. des hôpitaux.

LANDEL,
licencié ès sciences.

I. — État de la question

Par cancer à cellules muqueuses ou à évolution muqueuse, nous entendons une forme de cancer dont les éléments produisent une substance assimilable au mucus par son mode de formation, son aspect, et ses réactions microchimiques.

L'évolution muqueuse des cellules est encore, à l'heure actuelle, un fait assez mal connu, tout au moins dans le domaine pathologique. Jusqu'à ces dernières années, on confondait sous les noms de *dégénérescence mucoïde*, *hyaline*, *colloïde*, les productions les plus différentes. Aussi les traités classiques désignent-ils sous le nom de *cancer colloïde* tout cancer contenant en plus ou moins grande quantité une substance ayant l'aspect de la colle, sans préjuger en rien ni de l'origine, ni de la nature de ce produit. C'est ainsi que Cornil et Ranvier (1) admettent une variété colloïde d'épithélioma cylindrique, caractérisée par « une transformation des cellules en vésicules transparentes qui se

(1) Cornil et Ranvier, *Histologie pathologique*, 1881.

détachent successivement de la paroi des tubes et tombent dans leur cavité », et une variété colloïde d'épithélioma pavimenteux. A ce sujet, ces auteurs remarquent que l'altération débute par la formation de gouttelettes colloïdes soit dans le noyau, soit dans le protoplasme de la cellule, auquel cas le corps nucléaire est refoulé à la périphérie.

Ce cancer colloïde correspond aux formes désignées par les Allemands sous le nom de *carcinoma gelatinosum.* — Hauser (1), dans son ouvrage sur les épithéliomas cylindriques de l'estomac et du gros intestin, en donne une description détaillée accompagnée de plusieurs figures où il est facile de reconnaître un cancer à cellules muqueuses.

Cazin applique le terme de cancer colloïde à différentes variétés pathologiques, et en particulier au cancer à cellules muqueuses (2), quoique ayant déjà différencié certaines dégénérescences dans les tumeurs au moyen des réactifs colorants (3).

Plus récemment, Lange (4) rattache également aux cancers colloïdes les cancers du sein dans lesquels la transformation porte sur la charpente conjonctive, et aux tubes du digestif où les modifications ont pour siège l'élément épithélial.

Cette confusion n'a donc pas encore disparu à l'heure actuelle: et cependant, la production du mucus en histologie normale et pathologique a donné lieu depuis plus de dix ans à de nombreuses recherches. Celles-ci portent tout d'abord sur les tissus normaux ; Flemming (5), Hoyer (6), nous font connaître les principales réactions colorantes du mucus, et, en particulier, la propriété qu'il possède de donner en présence de quelques teintures le phénomène de la métachromasie; Lukjanow (7) l'étudie dans les cellules caliciformes du tube digestif de la salamandre; Unna (8)

(1) Hauser, *Cancer cylindrique de l'estomac et du gros intestin;* Iéna, 1890.
(2) *Assoc. franç. Av. Sc.;* Congrès de Besançon, 1893.
(3) *Contribution à l'étude des dégénérescences cellulaires* (*Journ. de l'Anat. et de la Physiol.*, 1890).
(4) Lange, *Beiträge z. Klin. Chir.*, XVI, 1, 1896.
(5) Flemming, *Zeit. f. viss. Mik.*, p. 318, 1885.
(6) Hoyer, *Arch. f. mik. Anat.*, p. 310, 1890.
(7) Lukjanow, *Arch. von Du Bois-Reymond*, 1887.
(8) Unna, *Coloration spécifique de la mucine* (*Monat. für pratisch. Dermat.*), 1895).

le rencontre dans différents tissus de l'organisme humain et indique de nouveaux procédés pour le mettre en évidence.

D'autre part, cette question a fait d'importants progrès en anatomie pathologique, et c'est sans nul doute la discussion sur l'origine parasitaire du cancer qui a le plus puissamment contribué à ce résultat. Il est même intéressant de constater que partisans et adversaires de la théorie coccidienne ont apporté une part égale à l'étendue de nos connaissances sur ce point. Nous ne voulons pas reproduire ici un historique très bien exposé par un grand nombre d'auteurs (1) ; nous remarquerons seulement que les travaux de Nils-Sjöbring, Thoma, Soudakewitsch, Foau, Podwyssozki et Sawtschenko, se rapportent à des formes identiques, de même que ceux de Kosinski (2) et de Pianèse (3), en ce qui concerne la dégénérescence muqueuse dans la cellule du cancer.

De ces nombreuses recherches ressortent d'une façon générale trois conclusions fort importantes pour notre travail :

1° La production de mucus pathologique a lieu dans les cancers cylindriques et glandulaires, qu'ils soient d'origine endodermique (foie, pancréas) ou ectodermique (sein). Elle serait tout au moins douteuse dans les épithéliomas pavimenteux;

2° Pour la grande majorité des auteurs (sauf Cazin) (4), la production du mucus dans la cellule cancéreuse doit être considérée non comme une fonction de l'activité cellulaire, mais comme un processus dégénératif tendant à entraîner la mort de l'élément où elle se développe ;

3° Cette dégénérescence muqueuse est un phénomène soit indifféremment nucléaire ou protoplasmique (Kosinski), soit simplement protoplasmique (Pianèse).

---

(1) Fabre-Domergue, *Discussion de l'origine coccidienne du cancer* (*Ann. de Micrographie*, 1894); — Santschenko : *Spaozoaires dans les tumeurs* (*Bibliot. medic.* DII, Heft 4, 1895, etc.).

(2) Kosinski, *Lec. sur la métamorphose des cellules du cancer* (*Cent. f. all. u. path. anat.*, 1892).

(3) Pianèse, *Beit. z. Hist. u. Biol. d. Carcinoms.;* Iéna.

(4) Cazin, Congrès de Besançon, *loc. cit.*

II. — Observation

Cancer colloïde du rectum

R... Cl., âgé de 53 ans, contremaître, entre, le 20 décembre 1894, salle Cochin, n° 3, pour un cancer du rectum dont le début remonte au mois de décembre 1893, soit juste il y a une année. R... commença à cette époque à ressentir des douleurs vagues qu'il comparait à des piqûres ou à des cuissons et qui revenaient principalement quand il était assis. Examinant ses matières, il remarqua que dans les derniers efforts de la défécation, il rendait quelques filets de sang.

En *mars* 1894, le malade consulta un médecin qui pratiqua sous le chloroforme la dilatation en juillet 1894 ; la défécation devint plus laborieuse, puis un peu après survint une sorte d'incontinence occasionnant un écoulement involontaire de matières diarrhéiques et de pus.

Jusqu'au mois dernier, les pertes sanguines se réduisaient à quelques filets de sang, mais alors se produisit une hémorrhagie abondante qui décida le malade à entreprendre le voyage de Paris.

En décembre 1894, voici quel est son état :

Il est pâle, cachectique, peu amaigri. Il ne mange plus qu'à contre-cœur. Il se plaint de coliques, d'envies fréquentes d'aller à la selle, envies infructueuses du reste. L'anus et le rectum sont le siège de sensations douloureuses, surtout pendant la station assise.

L'anus est béant resserré, non par la contraction du sphincter qui paraît très affaiblie, mais par une induration qui s'étend à 3 ou 4 centimètres et qui occupe la peau et le tissu cellulaire sous-cutané ; sur ce fond induré existent à droite quelques petits mamelons ulcérés et saignants.

Par l'anus s'écoulent continuellement des matières fécales liquides mêlées de glaires fétides, de quelques filets de sang et de pus.

Le toucher fait reconnaître que, de même que l'anus, le rectum est transformé en une sorte de cylindre dur et cartonneux dans l'étendue de 7 à 8 centimètres. La sur-

face est inégale, lisse par endroits, bosselée dans d'autres, saignante. Les parois du rectum ne sont pas distinctes des organes voisins.

Ces explorations sont fort douloureuses. Le doigt garde une odeur horriblement fétide.

Le 5 janvier, nous établissons un anus iliaque et, dans la même séance, sous l'anesthésie chloroformique, nous procédons au curettage du rectum : abrasion des bourgeons charnus, attouchements au chlorure de zinc, mèches de gaze iodoformée.

Examen des portions de tumeur enlevée :

Tissu blanchâtre, lardacé, mais très friable.

L'examen histologique fait reconnaître un carcinome alvéolaire en voie de transformation colloïde. Le tissu conjonctif est assez abondant. Les cellules conjonctives sont altérées et peu visibles. Les alvéoles sont remplies de grosses cellules plus ou moins arrondies, colorées d'une manière diffuse par l'hématoxyline.

L'emploi des couleurs d'aniline démontre dans ces cellules l'existence d'un noyau parfois arrondi, d'aspect homogène, le plus souvent de forme irrégulière, ou réduit à un croissant aplati occupant la périphérie de la cellule.

Du 10 janvier au 7 février, on fait des lavages quotidiens dans le rectum avec une solution faible de créaline.

Le 7 février, voici quelle est la situation :

L'état général est excellent, le malade a engraissé, il mange avec appétit et sent ses forces revenues, ne souffre plus, n'est plus tourmenté par les envies d'aller à la garde-robe et se lève toute la journée.

L'anus iliaque fonctionne bien, deux pansements par jour suffisent à en assurer la propreté. Le rectum, au toucher est lisse, cartonné, aucun écoulement purulent, aucune hémorrhagie, aucune odeur fétide.

Le 11 mars, le malade est tellement satisfait de sa situation qu'il m'écrit : « Je suis très heureux d'avoir été opéré, je vais de mieux en mieux, je ne souffre plus, je retourne à Paris pour que vous jugiez s'il est temps que vous fermiez l'anus. »

Cet état satisfaisant se maintient jusqu'au mois de janvier 1896 ; en février 1896, R... est revenu dans notre

service, il se plaint d'incontinence d'urine. Le 7 mars, l'urine qui s'écoulait involontairement par l'urèthre, s'écoule par le rectum.

Le 16 *mars*, nous observons que tout le pourtour de l'anus et la région fessière sont envahies par les végétations volumineuses, pâles, non saignantes, le rectum suppure et saigne de nouveau.

Le 18 *mars*, nous procédons à un nouveau curettage du rectum et à l'excision des végétations.

26 *mars :* apparition d'un œdème de la bourse gauche et de la jambe du même côté ; l'incontinence d'urine par l'urèthre et le rectum persiste, les urines renferment un peu d'albumine. Les végétations qui ont été excisées et cautérisées au chlorure de zinc repullulent avec une rapidité effrayante.

11 *avril :* vomissements alimentaires. Le malade est somnolent dans une sorte d'état demi-comateux.

30 *avril :* Le malade s'éteint dans le coma, sans avoir souffert beaucoup depuis ce dernier mois. L'autopsie n'a pu être que partielle et n'a porté que sur le rectum qui a été enlevé 3 heures après la mort.

III. — Technique

Les pièces destinées à l'examen microscopique ont été recueillies immédiatement après l'ablation et divisées en tranches minces, puis fixées pendant 24 heures dans une grande proportion de liqueur de Flemming forte plusieurs fois renouvelée. Les parties en rapport avec la muqueuse normale de l'intestin n'ont été fixées que quelques heures après la mort du sujet.

Les morceaux ont été lavés, déshydratés, montés rapidement (1 heure et demie) à la paraffine et débités en séries de coupes suivant la méthode connue. Les coupes ont été collées sur lame à froid (procédé à la gélatine d'Henneguy) pour éviter toute altération possible des éléments.

Nous avons principalement fait usage des colorations suivantes :

1° Safranine, puis hématoxyline de Delafield ;
2° Thionine en solution aqueuse ;
3° Bleu de méthylène en solution aqueuse ;
4° Fuschine acide S, puis acide picrique ;
5° Safranine, puis solution alcoolique de vert lumière et de violet acide ;
6° Safranine, puis solution alcoolique de bleu Victoria.

Nous avons maintes fois utilisé ces méthodes en histologie normale et pathologique, et nous pensons qu'elles suffisent par leur ensemble à caractériser d'une façon certaine le mucus dans les tissus. On obtient les différenciations suivantes :

Méthode 1. — Chromatine rouge. — Protoplasme orange. — Mucus violet.
2. — Chromatine bleue. — Protoplasme verdâtre. — Mucus violet.
3. — Chromatine verdâtre. — Protoplasme jaune pâle. — Mucus bleu.
4. — Chromatine rouge carmin. — Protoplasme jaune foncé. — Mucus jaune clair.
5. — Chromatine rouge. — Protoplasme verdâtre. — Tissu conjonctif vert bleu. — Mucus bleu violacé.
6. — Chromatine rouge. — Protoplasme clair ou verdâtre. — Mucus bleu violet foncé.

Ces procédés sont loin d'avoir tous la même valeur. La thionine, en particulier, préconisée par Hoyer, colore beaucoup d'autres substances de la même façon que le mucus ; de plus, la couleur est instable et disparaît facilement par les lavages à l'alcool. L'hématoxyline et le bleu de méthylène ne donnent pas des colorations délicates. La méthode d'Altmann (méth. 4) différencie bien les éléments et a l'avantage de produire des résultats très constants, après les fixations par un mélange chromo-osmique ; mais elle ne peut suffire à elle seule pour caractériser le mucus. Les procédés 5 et 6 sont surtout recommandables, car ils mettent en évidence non seulement la substance muqueuse, mais encore les structures les plus délicates des tissus. Le procédé 6 colore le mucus en bleu violet ; il n'a point la même action sur la substance cornée, la substance hyaline, ni sur les autres productions que l'on rencontre dans les

cancers. C'est ce procédé qui nous a servi pour colorer la plupart des préparations d'où sont tirées nos figures.

IV. — Examen histologique

Pour nous faire une idée complète de la tumeur que nous étudions, il est nécessaire de l'examiner dans ses différentes parties, c'est-à-dire : 1° dans les parties centrales ; 2° au niveau de la muqueuse rectale ; 3° au niveau de l'épiderme.

1° *Parties centrales* (1)

Si l'on regarde à un faible grossissement une coupe pratiquée dans cette région, on remarque tout d'abord des groupes d'alvéoles limités par du tissu conjonctif. Celui-ci forme dans certaines régions des travées qui peuvent atteindre 1 ou 2 millimètres d'épaisseur ; mais, le plus souvent, il est si peu abondant que l'on n'a plus sous les yeux que des alvéoles disposées côte à côte.

Ce tissu conjonctif n'a pas une structure embryonnaire ; il est constitué par des fibres qui présentent cette disposition aréolaire que l'on observe souvent dans le tissu cicatriciel. Entre les mailles de ces fibres, il existe une faible proportion de leucocytes, des petites cellules rondes, et de nombreux vaisseaux à parois adultes.

Les groupes d'alvéoles sont formés par des lacunes larges de quelques dixièmes de millimètre et séparées les unes des autres par une simple bandelette de tissu interstitiel. Ces bandelettes peuvent être reliées les unes aux autres par des travées plus fines, ce qui donne lieu à un système d'alvéoles secondaires. Le tissu interstitiel émet, en outre, des prolongements à l'intérieur des lacunes, déterminant ainsi des alvéoles incomplètes. — Ce tissu contient, malgré sa faible épaisseur, un certain nombre de vaisseaux.

Si nous examinons à présent les alvéoles à un plus fort

(1) C'est-à dire en pleine tumeur.

grossissement, nous remarquons qu'elles n'offrent pas toujours le même aspect. Les unes laissent apercevoir un fin réticulum dont les mailles sont ordinairement disposées en séries parallèles, et on remarque à l'intérieur de celles-ci d'autres réticulums semblables de deuxième et de troisième ordre. La substance fondamentale de ce réseau retient très énergiquement les teintures d'hématoxyline, malgré une fixation prolongée des tissus par la liqueur de Flemming : elle donne également lieu à toutes les autres réactions spécifiques de la mucine. Il est remarquable de constater qu'elle présente, au contraire, dans certaines régions, les réactions de la chromatine.

Les autres alvéoles (*fig.* 4) contiennent de grosses cellules libres, plus ou moins sphériques et disséminées çà et là ou rapprochées sans la moindre orientation. On les rencontre souvent au milieu d'un réticulum semblable à celui que nous venons de décrire.

La plupart de ces éléments rappellent par leur aspect les cellules des glandes salivaires. On y voit un ou plusieurs noyaux situés à la périphérie de la cellule, et ayant généralement la forme de croissants. Le plus souvent, ces noyaux ont une apparence homogène, se colorent vivement par les réactifs de la chromatine, et n'offrent aucune trace d'enveloppe. Leurs bords sont déchiquetés et amincis ; souvent l'on ne distingue plus de limite entre le noyau et le reste de la cellule. Le corps cellulaire possède fréquemment un réseau donnant les réactions colorantes du mucus. Parfois, on n'aperçoit plus dans la cellule qu'une simple tache chromatique.

Un assez grand nombre d'éléments ont un noyau ovalaire ayant conservé ses caractères normaux. Ces éléments contiennent, le plus souvent, une ou plusieurs sphères bien limitées par une enveloppe apparente et présentant les réactions du mucus. Enfin, on aperçoit une assez grande quantité de figures karyokinétiques.

Dans quelques points de la préparation (*fig.* 5), on observe de nombreux corpuscules sphériques, homogènes, très réfringents, de grosseurs variées et retenant avec une grande intensité les colorants de la chromatine. Les éléments dans lesquels on rencontre ces corpuscules pa-

raissent avoir subi une transformation hyaline. Le noyau surtout en contient un grand nombre; ils y sont parfois réunis en une ou deux masses homogènes, et il semble que le corps nucléaire soit le siège de leur formation. A mesure que ces sphérules deviennent moins abondantes et se disséminent en dehors de la cellule, le noyau devient transparent, et il n'en reste bientôt plus que les contours. Nous avons signalé ces corpuscules, parcequ'ils correspondent aux corps fuschinés que Russel considère comme des parasites; peut-être s'agit-il là d'un phénomène de chromatolyse analogue à celui que Flemming a signalé, en 1885, dans les éléments des follicules ovariens; mais nous ne leur donnerons ici aucune interprétation.

2° *Portions voisines de la muqueuse rectale*

Nous avons dit plus haut que les pièces destinées à cet examen avaient été recueillies à l'autopsie. L'altération des éléments après quelques heures ne nous a pas semblé très accentuée, et les principaux détails apparaissaient avec une suffisante netteté. Toutefois, ces conditions particuculières nous obligent à une grande prudence dans la description qui va suivre.

A mesure que l'on s'éloigne de la muqueuse saine (*fig.* 1), on voit les tubes glandulaires s'allonger et devenir parfaitement rectilignes, de façon que leur axe soit perpendiculaire à la surface de la muqueuse. Comme les éléments cancéreux des couches profondes infiltrent dans beaucoup de points les espaces interglandulaires, les tubes sont comprimés latéralement, et leurs parois internes arrivent presque à se toucher. Jusqu'ici, l'épithelium est encore cylindrique et paraît seulement diminué de hauteur. Il présente une tendance à se soulever et à quitter la paroi.

C'est au fond des culs-de-sac que les cellules commencent généralement à présenter des modifications. On y aperçoit quelques figures de division indirecte; les éléments sont arrondis ou irréguliers, tandis que le noyau grossit et devient plus riche en chromatine. La plupart sont déjà libres entre eux et tombent dans l'intérieur des tubes. Certains noyaux se fragmentent; les autres sont

aplatis et occupent l'un des pôles de la cellule, tandis que celle-ci présente les réactions du mucus (*fig.* 6, 7, 8). Finalement, la disposition tubulaire disparaît, et on ne rencontre plus que des grosses cellules sphériques à noyaux en forme de croissants, comme celles dont nous avons parlé plus haut.

On rencontre également des masses protoplasmiques fort nettes (*fig.* 9) contenant un certain nombre de noyaux, et des globes muqueux d'aspects variés correspondant à ce qui a été si souvent décrit comme sporozoaires.

3° *Portions voisines de l'épiderme*

Ici, nos fixations ont été faites sur des pièces recueillies aussitôt après leur ablation sur le vivant, et nous avons pris tous les soins nécessaires pour assurer la bonne conservation des tissus.

Lorsqu'on examine des cancers issus de l'épithélium cylindrique de la muqueuse rectale, on constate que la partie arrivée au contact de la peau par envahissement progressif ulcère le plus souvent l'épiderme et fait saillie sous forme d'excroissances ou de bourgeons ayant la constitution de la tumeur initiale.

Notre tumeur se présente bien ici sous forme d'excroissances papillomateuses ; mais celles-ci possèdent une structure tout à fait particulière.

Nous voyons en effet sur la coupe que les parties profondes seules contiennent les alvéoles à cellules muqueuses précédemment décrites. Toute la surface est recouverte par une couche plus ou moins épaisse de tissu épidermique. Cet épiderme présente de nombreuses modifications. En certains points, il est épaissi ; il envoie des prolongements vers les parties profondes, et sa surface montre une épaisse couche de lamelles cornées contenant parfois de grosses cellules aplaties.

Le *stratum granulosum* comprend jusqu'à six ou sept assises d'éléments bourrés d'éléidine.

Au milieu du corps de Malpighi, on aperçoit des globes épidermiques souvent très gros et bien développés (*fig.* 2) Çà et là, on observe des figures karyokinétiques. En

d'autres régions, et particulièrement dans celles où la tumeur offre une surface plus lisse, l'épiderme est, au contraire, aminci, et se réduit à la couche cornée quand cet amincissement atteint ses dernières limites. Il est facile d'en saisir la raison. On voit en effet les cellules du corps de Malpighi dégénérer suivant un mode particulier (1) ; leurs filaments sont moins nombreux; au lieu de rester engrenés les uns dans les autres, ils sont parfaitement séparés entre eux, et s'aperçoivent avec une remarquable netteté. Le milieu de ces ponts intercellulaires est alors souvent marqué par un point coloré comme la chromatine du noyau, et dont il est difficile de saisir la signification. Ces prolongements se soudent les uns aux autres, s'allongent ou se retractent, et subissent une dissolution qui envahit ensuite le protoplasme de la cellule; le noyau tombe dans le tissu interstitiel et finit par disparaître. A la place des cellules, il reste un tissu fibrillaire, d'aspect hyalin, non colorable, contenant des débris de cellules et quelques vaisseaux. On remarque que la dernière assise de l'épiderme qui est en contact avec ce tissu est toujours orientée comme une couche basale. Si la dégénérescence débute par les parties les plus profondes de l'épiderme, l'assise cellulaire restant au contact de la zone dégénérée s'oriente et reconstitue une nouvelle couche basale ; c'est pourquoi cette assise basale se rapproche progressivement de la couche cornée à mesure que l'épiderme se détruit, et finit elle-même par disparaître.

Quand cette dégénérescence commence par une autre partie du corps de Malpighi, la région atteinte s'élargit de plus en plus, et l'assise cellulaire qui la limite finit par s'adosser à la couche basale de l'épiderme. On voit alors dans le tissu interstitiel des files de cellules disposées sur deux rangs parallèles, et se reliant à l'épiderme par les deux extrémités.

Mais la disparition des ponts intercellulaires n'aboutit qu'exceptionnellement à la destruction complète de la cellule. Elle est plus fréquemment le point de départ de phé-

(1) Plasmolyse de Pianèse.

nomènes beaucoup plus intéressants dont nous allons donner la description.

Transformation des cellules épidermiques en cellules muqueuses

Nous venons de voir l'épiderme limité à sa partie inférieure par une assise basale qui le séparait du tissu sous-jacent. Le plus souvent, cette assise fait défaut, et l'on voit alors la couche de Malpighi se continuer sans transition brusque avec les éléments qui constituent la tumeur (*fig*. 3). Nous allons décrire les différentes formes cellulaires que l'on rencontre dans ce cas à mesure que l'on s'éloigne de la région épidermique.

Au niveau des corps de Malpighi, on trouve d'abord des cellules normales. Celles-ci sont polyédriques ; elle sont pourvues de prolongements protoplasmiques qui s'engrènen tétroitement les uns dans les autres et laissent apercevoir un noyau à contours réguliers, renfermé dans une alvéole fort nette qui l'isole plus ou moins du reste de la cellule.

Un peu plus loin, ces caractères persistent, mais les filaments protoplasmiques se raréfient et disparaissent, comme nous l'avons dit plus haut. Seulement, la dégénérescence s'arrête là, et le protoplasme n'est pas altéré (*fig*. 11, 12). — En même temps, le noyau commence à devenir plus gros et sa forme est moins régulière. La loge ovalaire qui le contenait n'existe plus (*fig*. 13). — A ce niveau, qui correspond à peu près à celui de l'assise basale, on voit de nombreuses figures de multiplication par division indirecte (*fig*. 14, 15). La reproduction cellulaire se montre là beaucoup plus active que dans les autres parties de la tumeur.

Les modifications les plus intéressantes vont dès lors se porter sur le réseau chromatique et les autres corps figurés du noyau. On sait que le nucléole se distingue des nœuds chromatiques par plusieurs réactions histochimiques, et, en particulier, par son peu d'affinité pour le vert de méthyle. Ici, ces différences semblent présenter peu d'importance, car le nucléole se comporte toujours

comme un simple nœud chromatique. — Ces corps se gonflent et se déforment; ils se fusionnent parfois les uns avec les autres et présentent pour les colorants de la chromatine, et principalement pour la safranine, une affinité tout à fait remarquable. Il devient le plus souvent impossible de les décolorer par l'action prolongée des teintures acides.

Le nucléole qui s'est gonflé aussi, et qui a pu se fusionner avec des grains chromatiques, s'entoure assez fréquemment d'une large aréole transparente (*fig.* 17).

Le noyau, qui était déjà relativement volumineux, commence à s'hypertrophier davantage (*fig.* 18); il présente ordinairement des anfractuosités et des saillies, et ses contours apparaissent plus nettement (*fig.* 19). — Les étranglements s'accentuent de plus en plus, et, de la sorte, il se produit une segmentation du corps nucléaire dans laquelle chacun des plus gros grains de chromatine devient le centre d'un nouveau noyau (*fig.* 20, 21, 22).

Cette segmentation se produit suivant plusieurs modes différents. Parfois, elle est égale; le noyau primitif se divise en deux ou en un plus grand nombre de noyaux secondaires; il y en a parfois une assez grande quantité; cette masse nucléaire a l'aspect d'une morula. — Plus fréquemment, elle est inégale; il se détache du noyau principal des noyaux plus petits, arrondis, ou encore de minces calottes sphériques qui, sur la coupe, ont l'apparence de croissants.

On remarque alors dans certains noyaux, et en général dans les plus volumineux, que quelques grains de chromatine, au lieu de se colorer comme les autres, présentent toutes les réactions du mucus. Le réseau nucléaire, qui finalement paraît subir la même transformation, est encore bien apparent (*fig.* 24, 25, 26); les grains transformés en mucus ont conservé avec lui les mêmes rapports que les autres grains chromatiques. Il ne s'agit donc point d'un dépôt de substance muqueuse dans la cellule, *mais d'une transformation* in situ *de la substance chromatique du noyau.* La comparaison de quelques-unes de nos figures, et surtout des figures 17 et 26, ne laissera aucun doute à cet égard.

Dans certains cas, on peut voir à l'un des pôles du noyau

tous les grains du réseau déjà transformés en mucus, tandis qu'à l'autre pôle leur nature chimique ne s'est pas encore modifiée (*fig.* 24, 25). — L'altération peut débuter par la périphérie du noyau, par son centre, par l'un des pôles. Elle peut commencer par le nucléole ou par les autres grains chromatiques. Dans le nucléole même, elle peut commencer par le centre, par la périphérie ou par l'un des pôles.

L'enveloppe du noyau disparaît quelquefois au moment où commence la transformation muqueuse (*fig.* 24, 25), mais ordinairement, et c'est là un fait intéressant, elle persiste et demeure très apparente, formant entre le corps nucléaire et le protoplasme une limite très nette. Tant que cette enveloppe existe, le protoplasme de la cellule continue à présenter les reactions ordinaires ; lorsque la fragmentation a eu lieu, il renferme des noyaux colorés de façons différentes, suivant que ceux-ci contiennent de la chromatine ou du mucus.

Ce processus se termine par la disparition du réseau nucléaire ; les grains se désagrègent, se déforment, se résolvent en une matière granuleuse qui remplit l'intérieur du noyau.

L'enveloppe ne tarde pas à disparaître, et le mucus, définitivement constitué, s'échappe dans le protoplasme de la cellule qui présente alors un aspect réticulé. Plus tard, la substance muqueuse peut se répandre dans les alvéoles ou dans les tissus environnants; il ne reste plus dans le protoplasme que des traces de mucus, et le réticulum a presque disparu (*fig.* 33 et 34).

Dans les cellules multinucléées, les noyaux qui n'ont pas subi la métamorphose muqueuse sont réfoulés à la périphérie de la cellule, où ils prennent l'aspect de croissants (*fig.* 28, 31, 33, 34). — La cellule pourvue de ces noyaux peut continuer à vivre longtemps et à se multiplier pour division indirecte.

Il arrive fréquemment aussi que le noyau primitif ne s'étant pas fragmenté, toute la chromatine ne se transforme pas immédiatement en mucus. Lorsque la plus grande partie a subi cette transformation, le reste semble se condenser à l'autre pôle du noyau et y former une masse

homogène disposée en croissant, qui se colore vivement par les réactifs ordinaires (*fig.* 35). — Les bords de cette masse chromatique ne possèdent aucune enveloppe ; ils sont irréguliers et semblent parfois se dissoudre dans la masse muqueuse qui remplit la cellule. Peut-être est-ce à une dissolution trop rapide de la chromatine qu'est due cette substance qui ressemble au mucus et se colore comme la chromatine, et que nous avons déjà signalé plus haut. Quoi qu'il en soit, tout porte à croire que ces cellules continuent à vivre un certain temps, car la tumeur en contient une grande proportion. Nous rappellerons encore ici l'analogie qu'elles présentent avec les cellules des glandes salivaires de l'homme.

Quelquefois, la métamorphose muqueuse du noyau est beaucoup plus précoce, et se produit dans la couche de Malpighi. Dans ce cas, les noyaux restent logés dans une alvéole où ils se métamorphosent en partie ou en totalité (*fig.* 10). Ils peuvent avoir l'aspect d'une sphère muqueuse contenant un croissant de chromatine à la périphérie. Ce fait semble démontrer que le protoplasme ne prend aucune part, tout au moins d'une façon directe, à la formation du mucus. Les préparations sont d'ailleurs beaucoup plus démonstratives à ce sujet que les figures qui représentent nécessairement une région très limitée.

V. — Objections et conclusions

Ces faits étant exposés, cherchons d'abord à voir s'ils sont à l'abri de toute critique, en examinant successivement les principales objections qui pourraient se présenter naturellement à l'esprit.

1° Nous avons bien suivi les phases de la métamorphose cellulaire à partir de la couche de Malpighi ; mais nous ne l'avons point fait d'une façon complète pour les cellules cylindriques de la muqueuse rectale. Pouvons-nous affirmer que l'évolution muqueuse s'y soit produite de la même manière, et devons-nous assurer qu'il ne s'agissait pas d'un simple contact entre le tissu cancéreux et la muqueuse saine ? Il est facile de répondre à ce premier point. En

effet, si nous n'avons pu voir ici tous les stades de la transformation muqueuse à partir de l'épithélium cylindrique, comme nous l'avons fait pour l'épithélium pavimenteux, l'un de nous a pu étudier tous ces stades d'une façon aussi complète que possible dans un cancer d'origine cylindrique, et ces recherches seront exposées dans un autre travail ; elles confirment d'ailleurs ces premiers résultats (1). D'autre part, nous avons vu nettement un certain nombre de formes de transition ; enfin, nos figures concordent avec celles d'Hauser et avec les descriptions des autres auteurs.

2° Les cellules muqueuses ne proviendraient-elles pas toutes, au contraire, de l'épithélium cylindrique, et ne sont-elles pas simplement en rapport avec l'épiderme qui se détruirait à leur contact ?

Nous avons vu dans certaines régions que la perte des filaments intercellulaires représentait le premier stade d'un processus purement dégénératif. Mais, dans les endroits où se produit l'évolution muqueuse, on peut constater les faits suivants :

a) Au niveau de la zone de transformation, il n'y a pas trace d'assise basale; celle-ci se reconstitue toujours quand il s'agit d'une dégénérescence des cellules épidermiques ;

b) Les prolongements de l'épiderme vers les couches profondes de la tumeur sont parfois constitués dans leur moitié inférieure par des cellules muqueuses : or, ces prolongements conservent dans ce cas la forme générale de leurs contours, et, en outre, *sont séparés du reste de la tumeur par du tissu interstitiel ;*

c) C'est au niveau de l'épiderme que les cellules cancéreuses se divisent le plus activement et qu'elles s'éloignent le plus de leur aspect ordinaire ;

d) Certaines cellules de Malpighi ayant encore gardé leurs prolongements présentent déjà une transformation évidente de leur noyau, qui peut subir en partie ou en totalité l'évolution muqueuse.

3° Les masses muqueuses que l'on rencontre si souvent dans les cellules n'ont-elles avec le noyau qu'une simple

(1) Landel.

ressemblance, et ne se sont-elles pas formées dans le protoplasme ?

La substance muqueuse peut, il est vrai, former des réticulums et présenter aussi en dehors de la cellule l'aspect de grains plus ou moins délimités. Mais le réticulum muqueux ne ressemble que très imparfaitement au réseau nucléaire même altéré, et la confusion ne nous paraît possible dans aucun cas.

4° Les masses muqueuses que l'on rencontre à l'intérieur des cellules, au lieu de représenter l'une des phases d'un processus régulier, ne sont-elles pas le résultat d'une réaction cellulaire due à la présence d'un parasite ?

Cette hypothèse mérite d'être prise en considération à cause des derniers travaux de Podwyssozki et Sawtchenko, qui croient constater au centre de ces globes muqueux la présence d'un corpuscule composé d'un protoplasme et d'un noyau, qu'ils assimilent à un sporozoaire. A l'aide d'une technique convenable, il est facile de constater que cette apparence est due à une petite quantité de mucus, présentant d'ailleurs ses caractères spécifiques et contenant un ou plusieurs grains de chromatine non encore altérés. Cette disposition est d'ailleurs exceptionnelle. — Ces apparences sont surtout remarquables dans les cancers d'origine cylindrique, et nous ne pouvons nous étendre ici sur cette question.

Nous devons donc tirer de notre travail les conclusions suivantes, qui sont en désaccord plus ou moins complet avec celles des autres auteurs :

1° Deux épithéliums différents de forme et d'origine peuvent produire simultanément des éléments semblables constituant une tumeur unique ;

2° La présence de mucus dans les éléments cancéreux n'est pas l'indice d'une dégénérescence, mais d'une fonction normale de ces éléments ne diminuant en rien leur vitalité ;

3° Dans les cellules cancéreuses issues d'un épithélium pavimenteux, la formation du mucus est due non à une altération ou à une sécrétion du protoplasme, mais à une transformation des éléments chromatiques du noyau en une substance ayant les caractères du mucus.

Nous devons mentionner ici les remarques de Lukjanow à propos de la formation du mucus dans la cellule caliciforme de l'intestin de la salamandre. Cet auteur constate que les noyaux des cellules caliciformes ne se colorent pas toujours de la même façon; que l'on peut retrouver dans la sphère muqueuse toutes les parties du noyau plus ou moins altérées, et qu'en réalité le contenu du calice n'est pas autre chose que la substance nucléaire modifiée d'une façon spéciale. Il rappelle que la mucine et la nucléine ont beaucoup de caractères communs. « Il est regrettable, conclue-t-il, que nous manquions des matériaux nécessaires pour pouvoir établir que les sphéroïdes muqueux sont toujours en certaine dépendance vis-à-vis du noyau dans les conditions pathologiques. »

Nous devons dire que ces travaux nous étaient inconnus lorsque nous avons entrepris dans le domaine pathologique ce que Lukjanow avait fait en histologie normale; il est intéressant de constater que nous sommes arrivés parallèlement à des résultats semblables. On saisira d'ailleurs facilement l'importance que peuvent avoir ces recherches pour la connaissance de la sécrétion muqueuse en général, si l'on considère que la plupart des phénomènes cellulaires étudiés jusqu'ici dans le cancer nous représentent, en définitive, une image, déformée il est vrai, mais agrandie de leurs homologues dans les tissus normaux.

VI. — Discussion

Nous devons revenir ici à notre première conclusion, et voir de quelles différentes manières on peut s'expliquer qu'un cancer provienne simultanément de deux épithéliums dissemblables.

Ce fait peut être interprété de l'une des façons suivantes :

1° Deux cancers distincts se sont développés côte à côte chez un même sujet et sont arrivés à se confondre;

2° Le cancer provient d'abord de l'épithélium cylindrique, et l'épiderme n'a proliféré à son tour que sous l'influence du contact des éléments néoplasiques ;

3° Une cause commune a simultanément déterminé l'évolution cancéreuse dans une région comprenant deux épithélium différents.

La première de ces hypothèses pourrait paraître acceptable, parce que chez un individu prédisposé, un cancer n'entrave pas l'apparition d'une autre tumeur. On a rapporté d'ailleurs des exemples semblables. Mais, dans ce cas, chaque néoplasme conserve ses caractères spéciaux. Ici, au contraire, nous aboutissons, de part et d'autre, à un même élément qui, tout en présentant une physionomie tout à fait particulière, est une véritable forme de conjonction.

Nous admettrons encore plus difficilement la prolifération de l'épiderme sous l'influence du contact : il n'existe aucune observation authentique de ce genre, et nous n'en avons observé nous-mêmes aucun exemple. Nous avons vu des épitheliums cylindriques en contact direct avec un épithélioma pavimenteux, sans la moindre barrière de tissu conjonctif ; il n'y avait aucune tendance à la prolifération. L'examen de notre tumeur nous montre d'ailleurs que la prolifération existe sans qu'il y ait contact avec les élements cancéreux des parties centrales.

Il reste la troisième hypothèse, qui semble la plus rationnelle. Il convient de mentionner ici les cas où l'on rencontre une évolution néoplasique frappant à la fois le tissu conjonctif et le tissu épithélial ; cela est fréquent dans certaines tumeurs du sein, et nous l'avons rencontré dans un cancer du larynx. Nous avons observé de même dans un épithélioma des glandes sudoripares, une participation de la couche de Malpighi à l'évolution cancéreuse ; on y trouvait des globes épidermiques à côté des tubes glandulaires de nouvelle formation. On sait, d'autre part, que les cellules muqueuses peuvent être aussi bien ectodermiques (glandes salivaires) qu'endodermiques (intestin), et il n'est pas inadmissible qu'une même cause inconnue, un *primum movens* à découvrir, arrive à les produire aux dépens de deux épithéliums différents. Mais il faut bien avouer que ce ne sont là que des hypothèses ne pouvant apporter actuellement aucun éclaircissement à la pathogénie du cancer.

EXPLICATION DES FIGURES

Les préparations qui ont servi pour ces figures sont tirées de pièces fixées par la liqueur de Flemming fortes et montées à la paraffine.

Fig. 1, 2, 3. — Chambre claire, Nachet, obj. 5, ocul. 2.

Fig. 1. — Coupe pratiquée au niveau de la muqueuse rectale, montrant le passage de l'épithélium glandulaire au tissu cancéreux. A gauche, tubes présentant encore la disposition glandulaire ; à droite, files de grosses cellules muqueuses, semblables à celles du reste de tumeur.

Fig. 2. — Coupe pratiquée au niveau de l'épiderme, montrant des globes épidermiques et, à gauche, une dégénérescence plasmolytique des cellules de Malpighi

Fig. 3. — Coupe pratiquée au niveau de l'épiderme, montrant en haut l'épaississement de la couche cornée, et en bas la transformation des cellules de Malpighi en cellules muqueuses.

Fig. 4, 5 et suivantes. — Coloration par la safranine et le bleu Victoria.

Fig. 4. — Nachet, Obj. 7, ocul. 2.

Coupe pratiquée dans les parties centrales. Alvéole montrant des éléments cancéreux à divers stades de développement.

Fig. 5. — Stiassnie, immers. hom. 1/15, ocul. 2. Productions rencontrées à l'intérieur de certaines cellules, ayant les attributs de la chromatine (corps fuschinés de Russell).

Fig. 6, 7, 8. — Nachet, obj. 7, ocul. 2. — Coupes pratiquées au niveau de la muqueuse rectale, montrant les différents stades de transformation des cellules cylindriques en cellules cancéreuses. Dans 6 et 7, la disposition glandulaire est encore visible ; dans 8, les éléments cancéreux sont détachés de la paroi et ont à peu près leur forme définitive.

Fig. 9. — Nachet, imm. homog. 1/14, ocul. 2. Masse protoplasmique rencontrée dans la même région, et contenant des noyaux à divers stades d'évolution muqueuse.

Fig. 10. — Stiassnie, imm. homog. 1/15, ocul. 2. Coupe pratiquée au niveau de la couche de Malpighi. On voit une raréfaction des ponts intercellulaires ; la substance chromatique du noyau est gonflée ; certains noyaux renfermés dans leurs alvéoles ont subi en partie la transformation muqueuse.

Fig. 11 et suiv. — Stiassnie, imm. homog. 1/15, ocul. 2. — Transformation des cellules normales de l'épiderme en cellules muqueuses.

Fig. 11, 12, 13. — Début de la transformation. Disparition des ponts intercellulaires et gonflement du noyau.

Fig. 14 et 15. — 2 stades de la division indirecte.

Fig. 16, 17, 18. — Gonflement du noyau, gonflement des grains chromatiques et diminution de la substance protoplasmique.

Fig. 19, 23. — Fragmentation du noyau.

Fig. 23, 27. — Modification des grains chromatiques de la cellule à un seul noyau ; 23 : Un petit nombre de grains seulement est transformé ; 24 et 25 : Un des pôles du noyau montre la transformation muqueuse, et l'enveloppe disparaît à ce niveau ; 26 : Cellule à un seul noyau dont toute la chromatine est transformée en mucus. On voit une aréole claire autour du nucléole. Comparer avec la figure 17.

Fig. 27, 31. — Transformation du noyau de la cellule multinucléée.

Fig. 32. — Le noyau après s'être fragmenté s'est transformé en mucus : il contient en sa partie centrale des noyaux secondaires encore non altérés.

Fig. 33, 34. — Fin de la transformation muqueuse. La cellule contient un ou deux noyaux, et son protoplasme présente encore des traces de réticulum. Le mucus a disparu à l'intérieur de la cellule.

Fig. 35. — Cellule muqueuse montrant à l'un de ses pôles un croissant de chromatine homogène et déchiqueté ; le reste du noyau est transformé en mucus qui s'est mêlé au protoplasma.

REVUES ET ANALYSES (1)

O. Bronstein. — **Action du tricrésol sur les microorganismes pathogènes** (*Meditzinskoïé Obozrenié*, 1896, n° 7)

Les recherches portaient sur les bactéries suivantes : *Staphylococcus p. albus* et *aureus*, *Strept. pyog.*, *Str. erysipelatus* B. d'Eberth, b. pyocyanique, b. de Klebs-Löffler, b. de la morve et b. virgule de Koch. — Les résultats sont les suivants :

La solution de tricrésol à 1 p. 1000, agissant pendant 2-3 jours, est bactéricide pour toutes ces bactéries, sauf le pyocyanique, pour le streptocoque et le b. de la morve, une solution à 1 p. 2000 suffit et pour le b. de la diphtérie même à 1 p. 2500.

La solution à 1 p. 100 tue les cocci pyogènes et le b. d'Eberth au bout de 5 minutes, le b. virgule, le b. de la morve et celui de la diphtérie au bout de 3 minutes; pour tuer le b. pyocyanique, il faut faire agir sur lui la solution pendant 10 minutes.

De plus, les solutions qui ne sont pas bactéricides entravent cependant le développement des bactéries. Les solutions faibles favorisent enfin le développement des formes d'involution et diminuent la colorabilité des bactéries.

Le tricrésol est donc un antiseptique puissant, trois fois plus actif, à concentration égale, que l'acide phénique.

Mme El.

M. Rostovtzeff. — **Des microorganismes de la langue noire** (*Gaz. clin. de Botknie*, 1896, n° 11-12)

La nature parasitaire de cette affection et, pour ceux qui l'admettent, la variété à laquelle appartiendrait le microorganisme pathogène de la nigritie de la langue, sont encore discutés. Parmi les travaux faits à ce sujet, les plus importants appartiennent à Ciaglinskj, Hewelke et Sendziack, qui décrivent dans l'enduit noir un champignon spécial, le *Mycosis linguæ mucorinum*. M. Rostovtzeff a eu récemment l'occasion d'observer deux malades, mari et femme, atteints de cette affection. L'examen bactériolo-

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

gique a démontré, dans les 2 cas, la présence, dans l'enduit noir qui couvrait la langue, des cladothrix et des levures.

C'est au cladothrix que l'auteur attribue l'hypertrophie de l'épithélium de revêtement des papilles filiformes qu'il a constatée chez ses deux malades, et la coloration noire. L'existence de l'affection chez le mari et la femme parle en faveur de sa nature contagieuse.

Mme El.

V. Rosenblatt. — **Variation de la quantité des bactéries dans les fèces pendant l'emploi du lait simple ou du lait contenant de l'acide carbonique** (*Thèse de Saint-Pétersbourg :* Conclusions de l'auteur).

Le lait dans lequel on a fait passer un courant d'acide carbonique désinfecte plus les matières que le lait ordinaire ; mais il ne paraît pas diminuer la nocivité de la bactérie la plus fréquente, le coli bacille.

Le lait, à l'acide carbonique ou non, constitue un très bon milieu de culture pour les bactéries des matières fécales.

Il est préférable de se servir, dans la numération de ces bactéries, exclusivement d'agar et jamais de gélatine, car les chiffres obtenus dans le premier cas se rapprochent plus de la réalité que ceux obtenus avec l'emploi de la gélatine.

Mme El.

A. Zouboff. — **Bactériologie de la conjonctivité suppurée aiguë estivale observée en Asie** (*Wratch*, 896, n°s 77, 18 et 20)

L'affection observée par l'auteur sévit épidémiquement en Asie centrale chaque été et n'épargne aucune classe de la société ; elle est éminemment contagieuse, et l'agent spécifique de cette maladie serait un bâtonnet très fin de 2μ de long, à extrémités tranchantes. Il se trouvait à l'état libre dans les larmes, mais surtout dans l'épithélium de la conjonctive qui en était farci. Il se colore par les couleurs d'aniline, mais non par le Gram. Si l'on examine le produit de sécrétion de la conjonctive le 3e jour de la maladie, c'est-à-dire quand la suppuration a déjà commencé, les bâtonnets se trouvent dans les globules de pus.

M. Zouboff n'a malheureusement pas pu obtenir la culture de ce bâtonnet, néanmoins il le considère comme pathogène. Ce bâtonnet serait très analogue à celui que Koch a décrit dans la conjonctivite d'Egypte, et la conjonctivite aiguë de l'Asie centrale serait très voisine de cette affection.

Cliniquement la conjonctivite aiguë infectieuse de l'Asie ressemble beaucoup à la conjonctivite gonorrhéique, mais quelques caractères particuliers permettent de différencier les deux affections.

Mme El.

N. Gamaleia. — Hétéromorphisme des bactéries sous l'influence de la caféine (*Wratch*, 1896, n°s 4 et 5)

Nous avons déjà analysé ici le travail du même auteur sur l'hétéromorphisme des bactéries sous l'influence des sels de lithium. Poussant l'étude de cette question plus loin, l'auteur a institué une nouvelle série de recherches, savoir: 1° quelles sont les autres substances qui peuvent provoquer cet hétéromorphisme et servir, en provoquant des changements des formes organiques, de réactifs morphogénétiques ; 2° quel est, dans le monde organisé, le rapport entre la forme et la matière.

En additionnant à du bouillon ensemencé de vibrions cholériques diverses substances inorganiques en quantité variable, M. Gamaleïa a constaté qu'aucune d'elles ne produisait l'hétéromorphisme du vibrion, sauf les sels neutres qui produisent les formes sphériques, mais encore l'hétéromorphisme ne va-t-il pas plus loin, et ces formes semblent surtout être un produit de dégénérescence.

Les recherches ultérieures avaient pour point de départ cette hypothèse que l'influence hétéromorphisante du lithium est due à l'action de ce sel sur la nucléine et que, partant, tous les réactifs morphogénétiques doivent avoir une affinité pour la nucléine. Parmi les substances ayant cette affinité, l'auteur a choisi les bases nucléiniques, puisque l'acide nucléinique se combine généralement avec les bases de la série xanthique ; aussi a-t-il expérimenté l'action morphogénétique des bases nucléiniques sur l'hétéromorphisme des bactéries et a trouvé que la caféine, qui appartient à cette série, est un de ces réactifs les plus énergiques. Si l'on additionne un bouillon de culture du vibrion cholérique de 0,40 p. 100 de caféine, on observe assez rapidement la formation de spirilles géants divers (v. analyse du premier travail, *Ann. de Micr.*, 1895, n° 4). Cette action de la caféine se produit non seulement en présence du vibrion cholérique, mais encore sur un grand nombre d'autres bactéries, surtout sur la bactérie charbonneuse, l'actinomyces et les levures.

L'affinité de la caféine pour la nucléine est remarquable. Si l'on place des bactéries vivantes dans une solution saturée de caféine, elle y subit une série de modifications caractéristiques. Ainsi, par exemple, si l'on examine une préparation colorée de la bactéridie charbonneuse, on voit qu'elle s'y désagrège au bout de quelques

heures, un des anneaux séparés fixant mal la matière colorante et contenant parfois des vacuoles incolores, et bientôt il ne reste en quelque sorte qu'une ombre de la bactéridie qui ne fixe plus les couleurs d'aniline. Mais l'examen des pièces non colorées démontre que cette désagrégation n'est qu'apparente, et les bacilles conservent leur aspect normal. Il faut donc attribuer l'aspect particulier des bactéridies colorées à ce que la caféine fixe leur partie colorable, la chromatine ; aussi M. Gamaleïa désigne-t-il ce fait sous le nom de chromatolyse. Cette dernière ne se produit plus si les bactéries sont soumises à l'ébullition ou bien si on ajoute à la solution des acides concentrés, des alcalins ou des antiseptiques qui empêchent la chromatolyse, probablement en coagulant la nucléine et les matières albuminoïdes qui les entourent. Tandis que le chloroforme, par exemple, qui tue les bactéries sans provoquer la coagulation de ces substances, n'empêche nullement la chromatolyse de se produire.

L'hétéromorphisme des bactéries est intimement lié à la chromatolyse, aussi cette dernière peut-elle aider à découvrir les réactifs morphogénétiques pouvant provoquer l'hétéromorphisme.

Les recherches faites par l'auteur dans cette direction ont démontré que l'hétéromorphisme peut, d'après son origine, être de deux sortes : 1° celui qui est produit par la chromatolyse et les substances qui provoquent cette dernière ; la caféine de ces substances ; 2° l'hétéromorphisme produit en dehors des substances chromatolytiques (sels de lithium par exemple). C'est peut-être à l'action des bases xanthiniques, présentes dans toute cellule vivante, et auxquelles appartient la caféine, qu'est dû le rôle qu'exerce la matière sur la forme et qu'exigent l'embryologie, la pathologie et la théorie d'hérédité et que constitue, pour les bactéries, l'hétéromorphisme.

Quant à la nature intime de la chromatolyse, elle est due à la fixation des parties colorables qui sont les nucléines des bactéries par la substance chromatolytique. Dans les organismes plus compliqués que les bactéries, les nucléines fixées par la caféine se déposent dans l'intérieur de la cellule, et la chromatolyse est intracellulaire. C'est par le même mécanisme que l'auteur explique la formation des protéosomes et le phénomène d'agrégation décrit par Darwin, et c'est la chromatolyse qui est l'image de la mort des bactéries dans l'organisme vivant, qui permettra de découvrir la nature intime des substances bactéricides.

Mme El.

J. Afanassieff. — **Contribution à la bactériologie du scorbut** (*Wratch*, 1896, n° 22, 29-32)

Dans ses recherches l'auteur se servait du seton, soit d'après le procédé qu'il avait déjà employé dans ses recherches sur la bactériologie du typhus, soit à l'aide d'un petit appareil qui assure l'asepsie. Il se compose d'un fin stylet dont l'extrémité est terminée en forme de poignard et dans l'anse duquel on enfile le seton. Le stylet, avec le seton, est introduit entre les mors d'une pince et le tout mis dans un tube en verre, dont l'orifice postérieur est bouché avec de la ouate qui peut se déplacer dans le tube avec la pince. Enfin ce tube avec le stylet et la sonde est introduit dans un tube à réactif également bouché avec de la ouate. On fait un pli à la peau aseptisée et l'on retire du tube à réactif le premier tube avec son contenu, on applique l'orifice ouvert de ce tube au pli cutané et on fait avancer, à l'aide de la pince, le stylet qui traverse le pli; on n'a ensuite qu'à sortir la pointe du stylet de façon à laisser le fil à seton dans le pli. Un pansement antiseptique couvre ensuite la plaie. 1 ou 2 jours après on enlève le seton, en se servant du même stylet.

L'introduction de ce seton dans les points présentant des lésions de scorbut et l'ensemencement des milieux de culture par ce seton a permis d'isoler 9 fois sur 10 une bactérie présentant les propriétés suivantes :

Dans le bouillon elle pousse sous forme de cocci disposés par 2-3-4, en longueur ou en amas, mais toujours entourés d'une membrane épaisse non colorable. Ses cultures fertiles troublent le bouillon rapidement et uniformément en développant une quantité extrêmement considérable de substance muqueuse. Les cultures peu abondantes ne troublent que la partie supérieure du bouillon; l'enduit couvre alors la partie avoisinante du tube; la substance muqueuse forme au fond un dépôt contenant quelques petits cocci. Dans les cultures jeunes et très riches, la bactérie est ovoïde et forme des amas épais. Dans les cultures riches mais vieilles, on trouve beaucoup de bactéries ovoïdes isolées ou accouplées, parmi lesquelles il y en a qui fixent mal les matières colorantes, et des variétés filiformes.

La forme de la bactérie est modifiée si l'on ajoute à 5 centimètres cubes du bouillon ensemencé 1 goutte d'acide phénique à 5 p. 100. La bactérie devient alors plus grande, prend quelquefois la forme de bâtonnets très longs et ovoïdes; parfois on y voit aussi des filaments épais. Les bâtonnets se colorent bien par le violet de gentiane et la fuschine et se décolorent par le Gram. Dans les

cultures plus faibles, l'acide phénique transforme les bactéries en sphères épaisses du volume double d'un streptocoque.

1° Sous l'influence de l'empois d'amidon, la bactérie, qu'il s'agisse d'une culture riche ou non, prend la forme d'un bâtonnet; il est deux fois plus long que large et encore un peu ovoïde dans les cultures intenses; très effilé, rectiligne ou un peu incurvé dans les cultures faibles. Les cultures avec empois secolorent moins bien que celles qu'on traite avec l'acide phénique.

La bactérie des cultures ordinaires se colore par les couleurs d'aniline sans se décolorer par le Gram. Le lendemain ou le surlendemain de l'ensemencement, elle présente des mouvements de propulsion qui cessent les jours suivants. La forme mobile est un coccus ovoïde. La bactérie des cultures amidonnées ou phéniquées est immobile. Dans les cultures très développées, de 8-10 semaines, on trouve des grains très fins ressemblant à des cheveux hachés menu et assez isolés les uns des autres, ou bien rappelant une fraise mûre;

2° Sur l'agar peptonisé la bactérie pousse le long de la strie, sous forme d'un enduit blanc à bords festonnés, très épais et ferme dans les cultures riches, plus mince dans les cultures plus pauvres où l'on peut l'enlever plus facilement. Les premières donnent des formes ovoïdes, les deuxièmes des variétés cocciformes. Ensemencées par piqûre, les deux forment un fin filament interrompu;

3° Sur la gélatine à 20-25 degrés, l'ensemencement en strie donne un enduit blanc; les cultures très fortes ne liquéfient la gélatine qu'au bout de 13-14 jours, et encore n'est-ce que faiblement; les cultures faibles ne la liquéfient pas du tout. Les ensemencements sur gélatine en surface ne liquéfient pas du tout les deux premières boîtes; dans la troisième, la liquéfaction se produit, mais tardivement et faiblement.

La culture sur gélatine en piqûre ne pousse pas. A 16-20 degrés, aucune culture ne pousse;

4° Sur la pomme de terre, la bactérie forme d'abord un enduit blanc limité surélevé, puis il devient brunâtre (si la bactérie vient d'être extraite de l'organisme) et s'étend à toute la surface de la pomme de terre. Si la bactérie a été enlevée depuis longtemps, l'enduit reste limité et d'un blanc sale, tandis que le reste de la pomme de terre devient brunâtre. La coloration brune peut aussi être obtenue en transportant sur la pomme de terre la culture dans le bouillon, additionnée d'acide phénique. Les bactéries des cultures mûres sur pomme de terre ont la forme ovoïde et sont plus grandes que celles poussées dans le bouillon. Les cultures faibles ressemblent par la forme aux cocci pyogènes;

5° Sur tous les milieux la bactérie développe une réaction alcaline.

6° Les cultures dans le bouillon ne donnent pas de réaction d'indol, mais, en revanche, on peut obtenir la réaction d'indol nitreux, surtout si la culture est vieille;

7° La bactérie du scorbut est aérobie et ne pousse pas ou à peine sur l'agar, dans l'hydrogène, ou en présence d'acide pyrogallique avec un alcali;

Plus la bactérie est faible, plus elle a besoin d'oxygène, et dans le bouillon les bactéries les plus faibles sont plus rapprochées de la surface;

8° Les cultures de 8-12 jours, mises dans du bouillon additionné de glucose et placées dans le coude fermé du tube de Dumbar, forment des gaz; les cultures moins réussies n'en forment pas;

9° Les cultures riches coagulent le lait, les pauvres ne le font pas;

10° Injectées à un lapin, les cultures provoquent des hémorragies dans les muscles, le tissu cellulaire sous-cutané, la peau et sous le péritoine viscéral.

Mme El.

J. Laborde. — **Recherches physiologiques sur une moisissure nouvelle** : l'*Eurotiopsis Gayoni* (*Annales de l'Inst. Pasteur*, XI, p. 1)

Eurotiopsis Gayoni a été étudié par M. Costantin qui en fait une espèce nouvelle d'un genre nouveau d'Ascomycètes qui se développe en général sous sa forme parfaite, comprenant des périthèces et des conidies.

La composition minérale et azotée du liquide de Raulin convient fort bien à sa culture. Alors que l'alcool éthylique, la glycérine, la mannite, la lactose ne sont des aliments pour l'*Aspergillus niger* que lorsqu'il est arrivé à l'état adulte, l'Eurotiopsis les utilise parfaitement au moment de la germination des spores. Par contre, la saccharose et l'inuline qui conviennent à l'Aspergillus ne sont pas touchées par l'Eurotiopsis.

Ce sont les sucres directement assimilables qui fournissent par jour le rendement moyen maximum en Eurotiopsis; les aliments indirectement assimilables ne sont utilisés par l'Eurotiopsis qu'après avoir subi une transformation diastasique.

Quand l'oxygène de l'air n'a pas directement accès dans la culture d'Eurotiopsis, on ne voit jamais apparaître d'acide oxalique, comme cela se produit avec l'Aspergillus.

Dans ces conditions de vie anaérobie, l'Eurotiopsis produit, avec les matières sucrées, des quantités d'alcool supérieures à celles que l'on obtient avec les levures de *Mucor* et certains saccharomyces, sans que sa constitution morphologique subisse une transformation importante.

R. C.

MAZÉ. — **Fixation de l'azote libre par le bacille des nodosités des légumineuses** (*Annales de l'Institut Pasteur*, XI, p. 44)

L'auteur a cultivé, à la température de la chambre, la bacille des nodosités sur un milieu solide formé d'une décoction de haricots et de gélose additionné de 2 p. 100 de saccharose et de 1 p. 100 de sel marin et d'une trace de bicarbonate de soude. Ce milieu était placé dans de grands vases coniques à tubulure inférieure, traversés par un courant d'air rigoureusement débarrassé de toute trace d'azote combiné (AzO^3H, AzH^3, etc...). L'azote total était dosé par la méthode de Kjeldahl avant et après la culture.

Dans ces conditions, le bacille se développe fort bien, et l'on constate un enrichissement notable en azote : le rapport de l'azote initial à l'azote gagné varie de 2/3 à 1.

Il n'est donc plus nécessaire d'invoquer la symbiose pour expliquer la fixation de l'azote libre de l'atmosphère par le microbe des nodosités ; cette propriété lui appartient en propre, indépendamment de l'influence exercée par la plante, qui doit seulement fournir au microbe les hydrates de carbone dont il a besoin pour accomplir sa fonction.

R. C.

P. REMLINGER et G. SCHNEIDER. — **Contribution à l'étude du bacille typhique** (*Annales de l'Institut Pasteur*, XI, p. 55)

Cet intéressant mémoire montre que le bacille typhique est bien plus répandu dans la nature qu'on ne le croit généralement, et qu'en dehors de l'homme malade et des produits qui en émanent on doit le considérer comme existant normalement dans les eaux potables, dans le sol, dans le tube digestif de l'homme sain, etc...

Les auteurs ont appliqué à l'étude de ces milieux, la méthode d'isolement du bacille typhique due à Elsner (cultures en plaques de gélatine à la pomme de terre, additionnée d'iodure de potassium). Ils étudièrent toutes les colonies non liquéfiantes écloses dans ces conditions et considèrent comme étant réellement (?) le bacille typhique, toute bactérie répondant au signalement qu'en a donné Lösener :

1° Aspect caractéristique des cultures sur gélatine ;

2° Vive mobilité des bacilles et variations de forme dans les milieux appropriés ;

3° Grand nombre de cils ;

4° Non-coloration par la méthode de Gram ;

5° Culture sans dégagement de gaz dans les milieux additionnés de sucre de raisin, de lait ou de canne ;

6° Culture dans le lait sans coagulation ;

7° Absence d'indol dans les cultures;

8° Réaction acide des cultures dans le petit lait ;

9° Identité de développement sur une pomme de terre dont une des moitiés est ensemencée avec un bacille d'Eberth éprouvé, et l'autre avec le bacille étudié ;

10° Culture tardive dans la solution de Maasse glycérinée ;

11° Action pathogène.

Auquel il faut ajouter : 1° l'inaptitude à se développer dans les milieux de culture où le bacille typhique a déjà vécu; et 2° le mode d'action du sérum des animaux immunisés contre le bacille typhique (action agglutinante sur les cultures et action préventive contre l'infection).

Sur 37 échantillons d'eau examinés, ils isolèrent 9 fois un bacille présentant tous les caractères du bacille d'Eberth, soit que la fièvre typhoïde régnât au moment de l'examen dans les villes alimentées par ces eaux (Meaux, Saint-Omer), soit qu'elle y eut sévi quelque temps auparavant (Châteaudun, Dijon).

Le même bacille, identique au bacille d'Eberth, fut trouvé 7 fois sur 13 dans la terre et la poussière, 5 fois sur 10 dans les fèces de personnes atteintes d'affections complètement étrangères à la dothiénenterie.

Les auteurs ont, en outre, rencontré fréquemment dans les eaux, le sol et le contenu intestinal de l'homme sain des bacilles présentant la plus grande ressemblance avec le bacille d'Eberth; qui, s'ils ne lui sont pas identiques, en sont au moins très proches parents, ne s'en différenciant que par leur virulence ou leur façon de réagir vis-à-vis du sérum.

Malheureusement, l'aspect des cultures, le nombre des cils, la faculté de faire fermenter la lactose ou le sucre de canne, la virulence, etc..., et même l'action agglutinante du sérum antitoxique, sont des caractères contingents, très variables, appartenant à un grand nombre de bacilles; il n'y a guère que l'action préventive exercée par le sérum antitoxique contre l'infection par le microbe litigieux qui demeure jusqu'à présent assez convaincante, pas assez cependant pour que la réunion de tous ces caractères constitue le critérium infaillible, permettant d'affirmer avec certitude absolue l'identité d'un bacille isolé de l'eau, du sol, des fèces... avec le bacille d'Eberth.

Quoi qu'il en soit, le travail de M. Remlinger et Schneider, qui met bien en évidence la banalité et l'extrême dispersion de ce qu'on est convenu d'appeler bacille typhique, contribuera à éclaircir beaucoup de points obscurs de l'étiologie de la dothiénenterie, et ouvrira des horizons nouveaux aux hygiénistes appelés entre autres choses à se prononcer sur la valeur et la captation des eaux destinées à l'alimentation. R. C.

C. Nicolle et A. Hébert. — **Contribution à l'étude des angines à fausses membranes** (*Annales de l'Institut Pasteur*, XI, p. 67)

Sur plus de 1.600 examens de fausses membranes, les auteurs ont rencontré six fois le bacille de Friedlander, à l'état de pureté, et deux fois ce bacille associé au bacille diphtérique.

Ces angines à bacille de Friedlander revêtent surtout la forme chronique; la forme subaiguë ou aiguë est beaucoup plus rare. Elles sont caractérisées par l'existence, sur les amygdales, sur les piliers ou sur la muqueuse pharyngienne, de petits points blancs nacrés ou jaunâtres de 1 à 5 millimètres de large; leur bord est net, leur nombre variable; ils ne se réunissent que rarement en une fausse membrane d'étendue importante. Ils sont très adhérents à la muqueuse, qui reste villeuse et saignante après leur enlèvement à la curette.

Ces lésions ne s'accompagnant d'aucun symptôme général; tout au plus note-t-on un léger chatouillement et une faible gêne pharyngée. La durée dans la forme chronique est très longue et peut atteindre plusieurs mois.

L'examen bactériologique donne seul un diagnostic certain; on peut pratiquer, si l'on veut, un examen direct de frottis de fausse membrane après coloration simple et après coloration par la méthode de Gram. Cet examen permettra de reconnaître l'existence du bacille de Friedlander (ne prend pas le Gram) et des microbes associés. Les auteurs recommandent surtout d'ensemencer les fausses membranes sur sérum : en 15 à 20 heures, on obtient des colonies assez grosses, arrondies, grisâtres, visqueuses, assez caractéristiques, qu'un examen microscopique montre formées de bacilles de Friedlander.

Dans les coupes (après durcissement et inclusion dans la paraffine) on trouve superficiellement des débris cellulaires, épithélium et globules blancs, disposés sans ordre, de la fibrine en grains, des bacilles de Friedlander plus ou moins associés aux bactéries de la bouche, leptotrix, etc. ; plus profondément, de la fibrine disposée en amas d'où partent des filaments anastomosés formant des loges emplies de bacilles de Friedlander ; plus profondément encore on voit la muqueuse congestionnée.

Les auteurs ont étudié les bacilles isolés dans 5 de leurs cas d'angines pseudo-membraneuses à bacille de Friedlanler pur, et dans 1 cas où ce bacille était accompagné du bacille de Löeffler. Leurs caractères morphologiques et de cultures sont très analogues à ceux des bacilles déjà décrits (1); au point de vue de leur action

(1) Grimbert, *Ann. de l'Inst. Past.*, 25 nov. 1895; 25 déc. 1896; *Soc. de Biologie*, 13 mars 1895.

fermentative sur les alcools polyatomiques et les hydrates de carbone, ils se rangent dans les deux premières catégories de la classification de M. Grimbert. Ils sont tous pathogènes et mortels en peu d'heures pour la souris; 2 se montrent presque inoffensifs pour le cobaye; 3 ont produit chez ce dernier un abcès au point d'inoculation, contenant un pus épais, filant, riche en bacilles; un seul a produit la mort du cobaye en 10 jours, avec des lésions de bronchopneumonie, de pleurésie pyo-hémorrhagique, et de la congestion des capsules surrenales; on a pu retrouver le bacille dans le sang et la pulpe des divers organes.

Enfin, 3 de ces variétés bacillaires injectées dans la veine de l'oreille de lapins ont amené rapidement leur mort, avec généralisation du bacille dans tous les organes, hypertrophie de la rate, et épanchement peu abondant dans le péritoine et la plèvre.

Les auteurs ne sont point arrivés à reproduire nettement les fausses membranes sur la muqueuse conjonctivale chez le lapin, sur la muqueuse vulvaire chez le cobaye.

Les mêmes auteurs (*loc. cit.*, p. 80) ont également isolé de la vase de la Seine une variété de bacille de Friedlander, se rapprochant beaucoup des variétés rencontrées par eux dans les fausses membranes, mais s'en distinguant en ce qu'il est seulement pathogène pour les jeunes souris; au contraire, il ne détermine aucun malaise chez une souris adulte à laquelle on l'injecte sous la peau à dose massive.

R. C.

A. Yersin. — **Sur la peste bubonique. Sérotherapie.**
(*Annales de l'Institut Pasteur*, XI, p. 81)

On sait que l'auteur à découvert précédemment (1894) le bacille spécifique de la peste bubonique. Celui-ci se présente sous forme d'un court bacille se teignant facilement par les couleurs basiques d'aniline, plus fortement aux extrémités; il est très abondant dans les bubons; dans les cas graves, il passe dans le sang, et à l'autopsie on le retrouve dans les ganglions lymphatiques, le foie et la rate. Il ne se colore pas par la méthode de Gram; on le cultive aisément sur la gélose et dans le bouillon alcalin.

Le rat et la souris sont très sensibles à ce virus, soit qu'on l'inocule par piqûre, soit qu'on le fasse ingérer. Ces animaux peuvent alors contaminer leurs voisins de cage. Le microbe se conserve longtemps dans la terre, légèrement atténué, mais prêt à recupérer son énergie primitive, lorsqu'il se trouvera placé dans des conditions favorables.

Les premiers essais de sérothéraphie (*Ann. Inst Past.*, 1895) ont été tentés sur des rongeurs, avec le sérum d'un cheval immunisé

par des injections intraveineuses répétées de cultures sur bouillons du bacille de la peste. Les résultats en furent très encourageants.

La première tentative thérapeutique sur l'homme a été tentée avec plein succès, le 26 juin 1896, sur un jeune Chinois pestiféré de la Mission catholique de Canton, qui reçut 30 centimètres cubes de sérum quelques heures après le début de la maladie, et qui guérit avec une rapidité surprenante.

Depuis lors, le Dr Yersin a pu traiter ses malades avec un sérum beaucoup plus actif. Sa statistique porte sur 26 cas : 3 à Canton, 23 à Amoy. Sur les 23 malades traités à Amoy, six au premier jour de la maladie ont guéri en 12 à 24 heures, sans suppuration du bubon avec 20 à 30 centimètres cubes de sérum.

Six étaient au 2e jour de la maladie : ils guérirent plus lentement, en 3 ou 4 jours, sans suppuration, avec 30 à 50 centimètres cubes de sérum.

Quatre étaient au 3e jour ; la fièvre a persisté encore 1 ou 2 jours ; la guérison fut obtenue avec 40 à 60 centimètres cubes de sérum ; deux malades virent leur bubon suppurer.

Trois étaient au 4e jour ; ils guérirent en 5 ou 6 jours avec 20 à 50 centimètres cubes de sérum ; un seul bubon suppura.

Quatre étaient au 5e jour ; 2 sont morts, dont l'état était désespéré au moment où le traitement fut commencé ; les 2 autres guérirent avec 60 et 90 centimètres cubes de sérum.

Ces 23 cas comprennent 6 jeunes garçons, 3 jeunes filles, 8 hommes, 4 femmes, 1 vieillard homme, 1 vieillard femme.

Les 26 cas totaux traités par le sérum ont fourni 2 morts, soit seulement 7,6 p. 100, résultat magnifique, si l'on songe que la mortalité de la peste bubonique n'est pas inférieure à 80 p. 100.

Le sérum employé à Amoy provenait d'un cheval de l'Institut Pasteur de Paris; il était préventif à la dose de 1/10 de centimètre cube pour une souris de 20 grammes ; il avait conservé ses propriétés curatives malgré un long voyage pendant la saison chaude. Les malades auxquels on l'injecte se plaignent parfois de vives douleurs au point piqué, mais ces douleurs se dissipent promptement, et aucun accident de quelque importance ne peut être attribué à ce sérum.

R. C.

R. Sabouraud. — **La séborrhée grasse et la pelade**
(*Annales de l'Institut Pasteur*, XI, p. 134)

La séborrhée définie par l'auteur « flux de sébum », c'est-à-dire du liquide secrété par les glandes sébacées de la peau, pouvant

envahir les régions glabres ou velues, doit être considérée comme une maladie microbienne (quoiqu'il ait été impossible de reproduire expérimentalement la maladie). Bénigne par elle-même, cette infection est le substratum obligé de l'acnée et de la furonculose chroniques, de certains épithéliomas, de certaines formes d'eczéma séborrhéïque ; enfin, elle offre, avec la pelade commune, les rapports les plus étroits.

Le microbe de la séborrhée grasse s'observe facilement en écrasant sur une lamelle le cylindre de graisse occupant les pores sébacés et que l'on fait sortir en râclant la peau. On dissout la graisse par l'éther, on colore par la méthode de Gram. Le microbe spécifique apparaît sous la forme d'un très fin bacille, de 1μ de long sur 1/2 μ de large ; les formes jeunes sont punctiformes et semblables à des cocci ; souvent il adopte la disposition en pelotons de bacilles sigmoïdes et incurvés, disposés en petites chaînes ou en fagots, suivant la disposition si commune au bacille de Koch.

Dans la peau, les colonies de ce microbe forment des petits kystes que l'on trouve localisés dans le 1/3 supérieur du follicule pileux, entre la surface cutanée et l'abouchement de la glande dans le follicule, contenus dans le cocon de lamelles cornées et de sébum qui se trouve placé entre la paroi folliculaire et le poil, repoussant celui-ci littéralement.

Le microbacille de la séborrhée grasse a déjà été étudié par Unna et Hodara, sous le nom de bacille de l'acné, sans voir le lien qui unit la séborrhée grasse aux infections qui s'y ajoutent et sans, du reste, pouvoir cultiver ce bacille. Au contraire, l'auteur a réussi à le cultiver en série sur gélose peptonisée et glycerinée à 2 p. 100, additionnée de 5 gouttes d'acide acétique par litre.

Sur ce milieu, il suffit d'ensemencer le produit de raclage de la peau lavée à l'éther préalablement, pour obtenir 1 ou 2 colonies pures d'emblée. Elles deviennent visible du 3[e] ou 4[e] jour (à 35°) et prennent peu à peu une forme conique acuminée qui peut en 15 jours faire une saillie de 2 millimètres. Ces colonies possèdent une couleur blanc sale sur les milieux glycérinés. Le microbacille séborrhéïque est fréquemment accompagné d'un coccus blanc, dont il est assez difficile de le séparer, surtout si l'on s'adresse pour l'isoler non pas à la lésion initiale, mais au comédon ou au bouton d'acné. L'auteur y arrive cependant assez aisément par la pasteurisation fractionnée ou par *le procédé des géloses vaccinées*.

Les microbacilles de la séborrhée grasse se rencontrent aussi en grande abondance dans tous les follicules pileux des plaques de pelade (*Alopecia areata*), alors que les follicules qui entourent la surface malade ne sont pas encore infectés. L'auteur admet l'identité microbienne de la pelade et de la séborrhée grasse.

R. C.

Diagnostics effectués par le Laboratoire de Bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois de février 1897

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	1	2	3	19	6	25	28
De 2 à 5 ans......	2	5	7	30	22	52	59
De 5 à 10 ans......	2	3	5	20	28	48	53
De 10 à 15 ans......	1	»	1	7	5	12	13
De 15 à 30 ans......	»	»	»	5	4	9	9
De 30 à 60 ans......	1	1	2	3	6	9	11
De 60 et au dessus ...	1	»	1	»	1	1	2
Age et sexe inconnus.	»	»	»	»	»	7	7
Totaux.........	8	11	19	84	72	163	182

Total des diagnostics.....................	182
Angines diphtériques.....................	19
Angines non diphtériques.................	163
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	10.4 p. 100

Le nombre des diagnostics pour les angines douteuses effectués en février par le Laboratoire de Bactériologie de la Préfecture de la Seine s'est élevé à 182; parmi ces angines, 19 seulement ont été trouvées diphtériques, ce qui abaisse la proportion des angines à bacilles de Löffler à 10,4 p. 100, chiffre très faible pour la saison, qui s'explique d'ailleurs par le nombre sans cesse décroissant des décès en ces sortes d'angines.

En février 1896, le total des décès par diphtérie s'élevait à 53; en février 1897, ce nombre s'est abaissé à 40. Aux mêmes périodes on a constaté en ville 17 et 11 décès.

Tuberculose

57 autres diagnostics ont été réclamés au Laboratoire de Bactériologie; sur ce nombre 39 étaient relatifs à des produits soupçonnés tuberculeux, où le bacille de Koch a été découvert 17 fois.

Soit au total 239 diagnostics pour le mois de février 1897.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel-de-Ville), *Décembre* 1896

DESIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 49 du 29 nov. au 5 déc. 1896 . . .	6.170	3.300	4°,2	15mm,4	S	17km,3	56	130
N° 50 » 6 déc. » 12 » » . . .	4.000	1.165	5 ,5	20 ,7	S	8 ,2	47	156
N° 51 » 13 » » 19 » » . . .	2.000	800	2 ,7	15 ,9	Var.	7 ,4	54	134
N° 52 » 20 » » 26 » » . . .	650	2.000	0 ,7	8 ,8	N-W	3 ,3	45	149
N° 53 » 27 » » 2 janv. 1897. . .	1.400	1.600	6 ,1	8 ,7	N-W	8 ,6	48	135
MOYENNES ET TOTAUX	2.845	1.770	3°,8	69mm5	Var.	8km,9	250	704
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies symotiques* sont comprises: les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (bronchite aiguë, broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Décembre 1896. Bactéries = 10.500 Moisissures = 6.500 Température = 10°,3

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Décembre 1896. Bactéries = 45 Moisissures = 60 Température = 3°,8

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Décembre* **1896**

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Décembre 1896	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge	2.250	1.110	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant	10.725	4.050	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust	7.550	1.930	»	»
» rue de Monceau, 15	700	1.685	»	»
» rue Paul Baudry, 10	1.090	1.685	»	»
» rue de Louvain, 9	5.730	1.685	»	»
» rue Foyatier, 1	9.480	1.685	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur	186.800	86.415	3°,9	»
» de la Seine à Ivry	51.125	64.915	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	113.750	100.040	4 ,0	Haut. = $2^m,20$
» de la Seine au pont de l'Alma	217.500	270.700	»	»
» de la Seine à Argenteuil	170.000	5.557.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	192.500	77.440	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, rue Petel, 8	37.500	»	»	»
» rue Guénégaud, 3	25.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain de Saint-Maur	27.500	10.170	»	»
» d'Asnières	250	1.485	»	»
6° Eaux d'Égout				
Eaux des collecteurs de Paris	4.500.000	19.885.000	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Janvier* 1897

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 1 du 3 janv. au 9 janv. 1897	5.660	2.830	3°,8	5mm,3	S-E	15km,1	47	156
N° 2 » 10 » » 16 » »	3.150	1.160	4 ,1	6 ,0	N-E	10 ,4	64	170
N° 3 » 17 » » 23 » »	2.160	2.000	0 ,1	5 ,7	N	13 ,6	73	158
N° 4 » 24 » » 30 » »	1.650	3.650	0 ,9	11 ,9	W	16 ,6	67	155
N° » » » » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	3.155	2.410	2°,4	28mm,9	Var.	13km,9	251	639
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Janvier 1897. Bactéries = 4.000 Moisissures = 18.000 Température = 8°,7

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Janvier 1897. Bactéries = 80 Moisissures = 101 Température = 2°,4

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Janvier* 1897

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Janvier 1897	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge	830	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant	1.635	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust	1.725	1.825	»	»
» rue Martel, 5	870	2.185	»	»
» rue Morand, 3	300	2.185	»	»
» rue Pelleport, 166	3.700	2.185	»	»
» avenue Parmentier, 109	700	2.185	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur	72.050	83.300	3°,8	»
» de la Seine à Ivry	12.500	61.730	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	47.500	96.370	3°,9	Haut. = 2m,05
» de la Seine au pont de l'Alma	30.000	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	35.000	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	188.800	75.370	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits poste de Garènnes	10.750	»	»	»
» rue Boileau, 85	42.500	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain d'Herblay	1.250	»	»	»
» d'Asnières	3.250	1.570	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	6.375.000	18.050.000	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Janvier* 1897

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 1 du 3 janv. au 9 janv. 1897	5.660	2.830	3°,8	5mm,3	S-E	15km,1	47	156
N° 2 » 10 » » 16 » »	3.150	1.160	4 ,1	6 ,0	N-E	10 ,4	64	170
N° 3 » 17 » » 23 » »	2.160	2.000	0 ,1	5 ,7	N	13 ,6	73	158
N° 4 » 24 » » 30 » »	1.650	3.650	0 ,9	11 ,9	W	16 ,6	67	155
N° » » » » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	3.155	2.410	2°,4	28mm,9	Var.	13km,9	251	639
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Janvier 1897. Bactéries = 4.000 Moisissures = 18.000 Température = 8°,7

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Janvier 1897. Bactéries = 80 Moisissures = 101 Température = 2°,4

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Janvier* **1897**

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Janvier 1897	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge.	850	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant	1.635	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust	1.725	1.825	»	»
» rue Martel, 5.	870	2.185	»	»
» rue Morand, 3.	300	2.185	»	»
» rue Pelleport, 166.	3.700	2.185	»	»
» avenue Parmentier, 109.	700	2.185	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	72.050	83.300	3°,8	»
» de la Seine à Ivry	12.500	61.730	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	47.500	96.370	3°,9	Haut. = 2m,05
» de la Seine au pont de l'Alma.	50.000	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	35.000	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	188.800	75.370	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits poste de Garènnes.	10.750	»	»	»
» rue Boileau, 85.	42.500	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain d'Herblay.	1.250	»	»	»
» d'Asnières	3.250	1.570	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	6.375.000	18.050.000	»	»

PUBLICATIONS RÉCENTES

O. Voges. — Kritische Studien und experimentelle Untersuchungen über die Bakterien der hämorrhagischen Septicämie und die durch sie bewirkten Krankeitsformen: Études critiques et recherches expérimentales sur les bactéries de la septicémie hémorrhagique et les affections qu'elles provoquent (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXIII, p. 149).

Roberto Binaghi. — Ueber das Vorkommen von Blastomyceten in den Epitheliomen und ihre parasitäre Bedeutung: Sur la présence de blastomycètes dans les épithéliomes et sur leur nature parasitique (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXIII, p. 283).

L. Pfeiffer. — Die neueren, seit 1887 vorgenomenen Versuche zur Reinzüchtung des Vaccinecontagiums. Des nouvelles tentatives faites depuis 1887 pour cultiver le contage de la vaccine (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXIII, p. 306).

M. Freyer. — Ueber den heutigen Stand der Variola-vaccine Frage. De l'état actuel de la question de la variola-vaccine (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXIII, p. 322).

Dr W. Lembke. — Bacterium coli anindolicum et Bacterium coli anaërogenes (*Archiv für Hygiene*, XXVII, p. 384).

L'Éditeur-Gérant: C. NAUD.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

DES AGENTS MICROBIENS DE LA MATURATION DU FROMAGE

Par Ed. de FREUDENREICH

Ainsi que l'ont démontré de nombreux travaux, la maturation du fromage, c'est-à-dire la fermentation que subit la pâte du fromage, est due à l'action d'agents microbiens. Mais quels sont ces microbes ? Jusqu'ici on a attribué le rôle principal dans ce processus aux *Tyrothrix* découverts par M. Duclaux dans du fromage de Cantal. Ces microbes altèrent profondément le lait dans lequel on les ensemence, et la maturation du fromage consistant précisément en une décomposition de la caséine, il était naturel de voir en eux les facteurs essentiels de la maturation. Rappelons que ces *Tyrothrix* appartiennent au genre des bacilles ; ils sont probablement proches parents, sinon identiques, avec les nombreux bacilles connus sous les noms de bacilles du foin, de la pomme de terre, etc. Ils liquéfient la gélatine et sont, en général, munis de spores très résistantes. Plus tard, toutefois, la question se compliqua. J'ai, en effet, constaté, au cours de mes recherches sur les fromages à pâte cuite (Emmenthal, Gruyère), que lorsqu'on emploie la méthode des plaques de gélatine, au lieu de l'ensemencement direct de parcelles de fromage dans du bouillon, les bacilles liquéfiants se rencontrent en nombre très limité, comparé à celui des ferments lactiques. En ensemençant, par contre, une parcelle de fromage dans du bouillon, qui, lorsqu'il n'est pas additionné de sucre, n'est pas un milieu

très propice pour les ferments lactiques, on voit presque toujours se développer un de ces bacilles *Tyrothrix*, car il suffit de la présence d'une seule spore pour faire éclore une riche culture, ce qui fait croire que ces bacilles étaient nombreux dans le fromage ; avec les plaques, au contraire, on constate que ces bacilles liquéfiants sont relativement très rares. Pour une ou deux de leurs colonies, on compte des centaines et des milliers de colonies de ferments lactiques. Même lorsque, pour éviter que la concurrence des ferments lactiques gêne leur éclosion sur les plaques, on prend la précaution de chauffer l'émulsion de fromage servant à l'ensemencement des plaques à 80° pendant 5 minutes, température qui détruit les ferments lactiques, mais n'atteint pas les spores des *Tyrothrix* ; ces derniers restent rares. C'est de suite après la fabrication qu'on les trouve en plus grand nombre ; plus tard, quand la maturation est en train, c'est-à-dire, après 3 à 4 semaines, ils commencent à devenir plus rares. J'ai alors eu la curiosité de voir ce que deviennent ces bacilles liquéfiants quand on les inocule en grandes quantités dans le fromage (1). Pour cela, le lait destiné à faire un fromage d'essai était inoculé avec une forte dose de culture liquide d'un de ces organismes, et l'on procédait à des numérations dans le fromage de suite après sa fabrication et après des temps variés. Or, j'ai constamment constaté qu'en quelques jours, sauf quand on ensemence des cultures contenant surtout des spores, leur chiffre tombe rapidement de quelques centaines de mille par gramme à quelques milliers à peine, évidemment les descendants de spores restées vivantes. Quand on a infecté le fromage avec des cultures très riches en spores, alors la diminution est moins sensible, et les numérations donnent des chiffres sensiblement les mêmes, fait provenant de ce que les spores restent en vie. Mais jamais il n'y a augmentation, et il paraît donc difficile d'admettre qu'une variété de microbes qui est plutôt rare dans le fromage et qui ne s'y développe pas puisse jouer un rôle prépondérant dans la maturation.

---

(1) Voir à ce sujet les travaux publiés dans le *Landw. Jahrbuch der Schweiz*, VIII, p. 207, et aussi ces *Annales*, II, p. 257, sur la question de la maturation du fromage en général.

Dans le fromage frais, on trouve aussi en grand nombre un microcoque liquéfiant la gélatine, qui se rencontre aussi constamment dans le lait. Ses propriétés peptonisantes pourraient faire supposer qu'il n'est pas sans influence sur la maturation du fromage, mais, après quelques jours déjà, il disparaît entièrement du fromage. Les ferments lactiques, au contraire, augmentent constamment de nombre dès le début de la maturation, et on trouve couramment plusieurs millions de ces ferments par gramme dans le fromage en voie de maturation.

On pourrait encore supposer que des êtres anaérobies seraient un des agents prépondérants de la maturation, mais toutes les recherches que j'ai faites à cet égard m'ont convaincu de leur rareté relative. On trouve, il est vrai, sur les plaques tenues à l'abri de l'air, des masses de ferments lactiques, mais ce sont le plus souvent les mêmes que donnent les plaques exposées à l'air, car la plupart des ferments lactiques sont des anaérobies facultatifs. En fait d'anaérobies vrais, je n'ai rencontré qu'un bacille paraissant identique au bacille de l'œdème malin, mais rarement. La présence de ce dernier n'a d'ailleurs rien d'étonnant, car il se trouve dans les matières fécales des animaux, et on sait combien souvent le lait est contaminé pendant la traite par des parcelles des excréments des vaches.

On pourrait aussi penser que les agents de la maturation du fromage sont des êtres difficilement cultivables que l'on n'aurait pas encore réussi à isoler. Cette hypothèse ne me paraît cependant guère vraisemblable, car pourquoi des bactéries saprophytes, se cultivant dans le fromage, ne se multiplieraient-elles pas dans nos géloses et gélatines, surtout quand on les additionne de lait ?

A part les microbes cités, on rencontre naturellement, dans le fromage, les espèces les plus variées, mais sans aucune régularité. Ces hôtes fortuits n'ont donc vraisemblablement rien à faire avec la maturation.

Nous resterions ainsi en présence des ferments lactiques si nombreux dans le fromage; aussi ai-je dans des travaux antérieurs émis l'hypothèse que c'était à eux qu'incombait le rôle principal dans cette fermentation de nature spéciale. J'admets cependant que cette hypothèse ne soit pas sans

soulever certaines objections, car ce que nous savons jusqu'ici des ferments lactiques ne semble pas nous autoriser à croire qu'ils soient aussi des ferments de la caséine. Or, sans que la caséine soit attaquée, il n'y a pas de maturation. On sait, en effet, depuis les recherches classiques de M. Duclaux, que l'un des phénomènes essentiels de ce processus réside dans le fait qu'une partie de la caséine insoluble du fromage devient soluble. C'est aussi précisément sur cela qu'est basée la méthode d'analyse des fromages, employée par M. Duclaux. Après avoir montré, en effet, que dans le lait la caséine est, en majeure partie (les 9/10 environ) en suspension et qu'en filtrant du lait à la bougie Chamberland on ne retrouve dans le filtratum que le dixième de la matière albuminoïde totale, c'est-à-dire celle qui se trouve en dissolution dans le lait, M. Duclaux a constaté que l'extrait aqueux d'un fromage arrivé à maturation filtré à la bougie contenait beaucoup plus de substances albuminoïdes qu'au début, et il a appelé *rapport de maturation* la quantité de matière filtrable au travers de la porcelaine et la quantité de caséine totale existant dans le fromage.

Or, lorsqu'on inocule des ferments lactiques dans du lait on voit le lait se cailler, et l'acide produit agissant à la façon d'un antiseptique, l'on ne constate plus aucune autre altération. J'ai pensé, alors, que si l'on neutralisait l'acide formé au fur et à mesure, on permettrait aux ferments inoculés de continuer leur œuvre et qu'en filtrant plus tard le lait à la bougie Chamberland le filtratum contiendrait peut-être plus de substances albuminoïdes qu'un lait de contrôle également filtré, mais n'ayant pas été ensemencé avec des ferments lactiques. N'ayant en vue que des expériences préliminaires, j'ai simplifié le procédé d'analyse de M. Duclaux, qui exige des dosages nombreux du résidu sec, des calcinations, des dosages du sucre de lait, etc., et je me suis borné à doser l'azote du filtratum (j'ai toujours, au début, employé 25 centimètres cubes de celui-ci). Il est évident qu'une teneur plus élevée en azote devait faire admettre que, sous l'influence des bactéries, une partie de la substance albuminoïde du lait était devenue filtrable. Avant la filtration, la pureté des cultures fut naturellement

toujours constatée par des ensemencements sur des milieux appropriés.

J'avais 3 espèces de cultures, âgées de 3 mois environ, à ma disposition :

Deux ballons de lait écrémé (les ballons contenaient environ 500 centimètres cubes de liquide), ensemencé avec un microcoque ovale ou bacille très court, que l'on trouve constamment dans le lait et le fromage et qui paraît être identique avec le bacille lactique décrit par M. Leichmann comme le facteur habituel de la coagulation spontanée du lait ;

Un ballon ensemencé avec un bâtonnet, également un ferment lactique, isolé d'un fromage ;

Deux ballons ensemencés simultanément avec un très court bacille caillant le lait, probablement identique avec le bacille que j'ai antérieurement décrit sous le nom de bacille α (Ces *Annales*, II, p. 257) et avec un bacille plus long, le même que celui du ballon précédent.

J'appellerai ces cultures A, B et C.

A titre de contrôle, 2 ballons contenant un lait écrémé de même provenance, mais non ensemencés avec des bactéries et tenus à l'étuve aussi pendant 3 mois, furent filtrés à la bougie, et l'azote du filtratum fut dosé comme plus haut. L'un de ces laits en contenait 0,034 p. 100 et l'autre 0,031 p. 100, ce qui correspondrait à une teneur de 0,227 et 0,209 p. 100 de caséine (par multiplication avec le facteur de la caséine, soit 6,557). La moyenne d'azote dans le lait filtré serait ainsi de 0,032.

La culture C, répartie en 2 ballons, également filtrée, donna, pour le premier ballon, 0,179 p. 100 d'azote (= 1,178 p. 100 de caséine) et, pour le second ballon, 0,152 p. 100 d'azote (= 0,996 p. 100 de caséine), en moyenne donc 5,1 fois plus d'azote, c'est-à-dire de substance albuminoïde filtrable que dans le lait non ensemencé.

Dans le filtratum de la culture B je trouvai 0,191 p. 100 d'azote (= 1,225 p. 100 de caséine), soit environ 6,4 fois plus, que dans le lait normal filtré.

La culture A donna des résultats moins marqués, 0,044 p. 100 d'azote (= 0,289 p. 100 de caséine) pour un premier ballon, et 0,111 p. 100 d'azote (= 0,73 p. 100 de

caséine) dans un second ballon, soit, en moyenne, 2,4 fois plus que dans le lait de contrôle.

Ces laits bleuissaient légèrement le papier de tournesol rouge; le contenu du filtratum des cultures B et C était brun foncé : celui du filtratum de la culture A, par contre, était jaune clair comme celle du lait filtré. L'odeur et le goût de ces laits étaient très particuliers et absolument différents de celui du lait de contrôle.

Quel est maintenant l'interprétation à donner à ces résultats? Il est certain que, dans les cultures B et C surtout, une partie de la caséine a été transformée en substances albuminoïdes solubles et filtrables. Peut-être pourrait-on penser que ce phénomène était dû non pas à l'action directe des bactéries, mais à celle de l'acide lactique produit. Celui-ci était, il est vrai, neutralisé par la craie déposée au fond des ballons que l'on agitait fréquemment; mais l'acide se produisant au fur et à mesure, on pourrait supposer qu'il avait le temps d'agir sur la caséine. Pour élucider cette question, j'additionnai du lait avec 0,5, — 1 et 2 p. 100 d'acide lactique et le tins pendant quelque temps à l'étuve. Je filtrai alors, après quelques jours, une partie du lait additionné de 2 p. 100 d'acide lactique et dosai l'azote du filtratum; il y en avait 0,034 p. 100 et, dans le lait filtré de contrôle, 0,031 p. 100; la différence, on le voit, peut être considérée comme nulle, car elle se tient dans les limites des erreurs d'expérience. Le lait additionné de 1 p. 100 d'acide lactique fut filtré et analysé après 5 semaines; il contenait 0,034 p. 100 d'azote. Celui additionné de 0,5 p. 100, également filtré et analysé après 5 semaines, donna 0,027 p. 100 d'azote. Il est donc évident que l'acide lactique n'est pour rien dans l'altération de la caséine constatée dans mes cultures.

Encouragé par ces résultats, je fis alors une seconde série d'expériences analogues, mais dans lesquelles je poussai l'analyse des laits filtrés plus loin pour rechercher si les ferments lactiques n'avaient pas seulement solubilisé la matière albuminoïde, mais aussi fait subir à celle-ci une véritable décomposition. Ces expériences ne sont pas encore toutes terminées et feront l'objet d'une publication ultérieure plus complète, mais je puis aujour-

d'hui déjà rapporter les résultats de quelques-unes de ces analyses.

Le lait maigre, additionné de craie, était, comme précédemment, ensemencé avec différents ferments lactiques isolés du fromage, tenu quelque temps à l'étuve, puis filtré à la bougie Chamberland. Je commençais alors par doser, d'après la méthode de Kjeldahl, l'azote contenu dans 25 cmc. du filtratum. Dans une autre partie de la culture filtrée (50 cmc.) je précipitais les substances albuminoïdes par l'acide phospho-tungstique, et je dosais ensuite l'azote tant dans le résidu de filtration que dans le filtratum ainsi débarrassé des substances albuminoïdes. Je devais ainsi avoir l'azote des matières albuminoïdes restées sur le filtre et l'azote des produits de décomposition proprement dite de la matière albuminoïde du lait (amides). Voici les résultats de deux de ces expériences.

I. Lait inoculé le 23 mars 1897 avec le bacille α et filtré le 14 mai 1897. La culture est absolument pure, réaction un peu acide..

On commence par doser la teneur en azote du filtratum ; elle est de 0,201 p. 100, chiffre bien supérieur, on le voit, à la teneur en azote moyenne du lait filtré non soumis à l'action des ferments lactiques.

Cinquante centimètres cubes furent alors traités par l'acide phospho-tungstique. Le résidu de filtration donna 0,035 p. 100 d'azote (soit l'azote des matières albuminoïdes), tandis que le filtratum débarrassé de substances albuminoïdes en contenait 0,166 p. 100 (soit l'azote des produits de décomposition des substances albuminoïdes). En additionnant ces deux derniers nombres, nous retrouvons l'azote total (0,201 p. 100) contenu dans le filtratum avant son traitement par l'acide phospho-tungstique.

II. Lait inoculé le 9 mars 1897 avec le bacille ε (aussi un ferment lactique isolé du fromage de l'Emmenthal) et filtré à la fin de mai. Goût un peu analogue à celui du fromage. Ce lait filtré a une teneur en azote de 0,118 p. 100. Après traitement par l'acide phospho-tungstique, le résidu de filtration contient 0,024 p. 100 d'azote et le filtratum débarrassé de substances albuminoïdes 0,099 p. 100.

On voit donc que la plus grande partie de l'azote contenu dans ces laits filtrés n'appartient pas à la matière albuminoïde en solution du lait, mais aux produits de décomposition de cette dernière. Ainsi, les ferments lactiques n'ont pas seulement solubilisé et rendu filtrable à travers la porcelaine la caséine du lait, mais ils l'ont aussi décomposée, ce en quoi consiste précisément le phénomène de la maturation du fromage.

Si l'on rapproche ces chiffres de ceux obtenus par M. Bondzynski (Landiv. Jahrbuch der Schweiz, VIII, p. 189) dans ses analyses de fromages divers, on constate une concordance intéressante. Ainsi, pour citer un exemple, cet auteur trouve dans le filtratum des émulsions de fromage mûr de l'Emmenthal 2,44 p. 100 d'azote, soit l'azote des parties solubles du fromage. L'azote des produits de décomposition donna le chiffre 0,93 p. 100. Dans ma dernière analyse précitée, on avait trouvé pour l'azote total du filtratum de la culture (comparable au filtratum des émulsions de fromage de M. Bondzynski) 0,118 p. 100 et 0,099 p. 100, pour l'azote des produits de décomposition (amides). Ces chiffres sont environ 10 fois moins élevés que ceux de M. Bondzynski, mais celui-ci analysait des fromages et moi des cultures dans du lait ; or, pour faire un kilogramme de fromage, on compte à peu près 11 kilos de lait; la concordance est donc aussi parfaite qu'elle peut l'être, étant donné que les conditions d'expérience (température, etc.) n'étaient pas identiques. Il en résulte clairement que le lait ensemencé avec des ferments lactiques subit une altération absolument comparable à celle que l'on constate dans le fromage cuit arrivé à maturation.

Il résulterait donc de tout ce qui précède que les ferments lactiques sont, en effet, doués du pouvoir d'attaquer la caséine, de la transformer en substances albuminoïdes solubles et en amides. Si l'on tient compte de l'augmentation énorme de ces ferments lactiques dans le fromage en voie de maturation, on voit donc, ainsi que je l'avais déjà précédemment supposé, que cette variété de bactéries joue le rôle le plus important dans le processus de la maturation des fromages cuits. Je dis « fromages

cuits », parce qu'il ressort de mes précédentes recherches que, dans la maturation un peu différente des fromages à pâte molle, l'*oïdium lactis* et les levures prennent également une part active. Je n'ai pas besoin d'insister sur l'importance que ce fait nouveau aurait pour la pratique, car la condition essentielle pour améliorer la fabrication des fromages, par exemple par l'addition de cultures bactériennes, ainsi qu'on le fait déjà pour l'acidification de la crème destinée à être transformée en beurre, est, avant tout, de connaître la nature des agents de la maturation.

J'ajouterai que j'ai de plus en plus l'impression que l'étude des ferments lactiques nous réserve encore bien des surprises. Un fait, en particulier, me frappe ; tandis que, dans le lait aigri spontanément, on retrouve presque toujours le même microorganisme, le bacille court de Leichmann, identique probablement à mon microcoque ovale, on rencontre, dans le fromage, en outre de celui-ci, d'autres ferments lactiques qui paraissent ne pas contribuer à la coagulation spontanée du lait. Ce sont aussi des producteurs d'acide, et ils caillent généralement le lait, quoique avec moins d'énergie que le bacille de Leichmann, c'est pourquoi je les range parmi les ferments lactiques, mais leur pullullation dans le fromage semble bien indiquer que la caséine est pour eux un aliment particulièrement approprié, ce qui expliquerait leur aptitude à intervenir dans le processus de la maturation.

MATRAS POUR CULTURES SUR BLOCS DE PLATRE

Par H. SCHIONNIG

C'est DE SEYNES, comme on sait, qui le premier décrivit clairement la formation des spores dans l'intérieur des cellules de levure. En cultivant, dans du vin fortement étendu, une végétation qu'il considérait comme le *Mycoderma vini*, il obtint des cellules de levures endosporées. Pour provoquer cette formation de spores, d'autres savants employèrent les cultures sur tranches de carottes, de pomme de terre, etc. (REESS), ou même les chambres humides posées sur le porte-objet du microscope (DAVID et BREFELD). Un des milieux le mieux approprié à cette culture est le plâtre humide (ENGEL).

N'importe quel que fût le milieu employé, la production des ascospores tenait en réalité au jeu du hasard, par la raison qu'on ne connaissait pas encore les lois du développement des spores des levures. REESS, qui s'était le plus occupé de cette question, était lui-même victime de certaines illusions en croyant, par exemple, que le développement des endospores était favorisé par des températures inférieures à 8 degrés centigrades ; qu'il était utile de laver la levure ; qu'il fallait amener la transformation de la levure haute en levure basse avant qu'une production de spores pût avoir lieu, etc. Devant ces affirmations, on comprend aisément qu'il y eût des expérimentateurs qui doutassent de l'existence absolue de ces formations de spores et que la plupart d'entre eux, PASTEUR de ce nombre, fussent peu disposés à en tenir compte.

Les recherches expérimentales de E.-CHR. HANSEN (1) firent considérablement avancer cette question, lorsque cet auteur eut trouvé les conditions favorables à la formation des ascospores et put par là indiquer une méthode sûre pour les obtenir.

---

(1) E.-CHR. HANSEN. Les ascospores chez le genre saccharomyces (*C. R. des travaux du Lab. de Carbsberg.*, vol. II, 1883, p. 13).

Suivant la méthode de HANSEN, on cultive l'espèce de levure en question quelquefois dans du moût de bière, à la température ordinaire, puis pendant 24 heures à 24 degrés — il n'y a que les cellules jeunes et vigoureuses qui donnent un actif développement de spores — on place alors cette végétation sur un milieu humidifié, à une température élevée, en ménageant l'afflux de l'air atmosphérique. Pour la plupart des espèces, la température de 25 degrés est très favorable. A 8 degrés, comme REESS avait cru devoir le conseiller, le développement n'a pas lieu ou s'effectue seulement avec une extrême lenteur.

On ensemence ordinairement la levure sur un bloc de plâtre (1) placé au centre d'un godet de verre muni d'une plaque fermant incomplètement. Puis on verse de l'eau stérilisée jusqu'à ce que le vase soit rempli à moitié, et, après que le bloc s'est imbibé et est devenu d'un aspect brillant, on installe le tout dans un thermostat. Ce dispositif entraîne cependant un inconvénient : c'est que les cultures se conservent difficilement à l'état de pureté, elles sont fréquemment contaminées par des organismes étrangers qui gagnent le bloc de plâtre en pénétrant par la fente laissée par le couvercle non exactement adhérent. Si l'on opère avec précaution, ce sont principalement des bactéries et plus rarement des moisissures qui arrivent au contact des cultures ; de nombreuses recherches, faites pendant plusieurs années, ont établi que les cellules de levures étrangères donnant des spores n'ont aucune chance à venir se développer sur les blocs de plâtre. En général, cette contamination n'acquiert pas d'importance notable ; mais, dans des recherches plus délicates, il peut être utile de conserver toujours à une culture sa pureté initiale, afin

---

(1) En 1893, WICHMANN et ELION ont recommandé de substituer aux blocs de plâtre des blocs d'argile. Quelques années auparavant, NIELSEN avait fait au laboratoire de Carlsberg quelques essais comparatifs de culture sur ces deux substances. Plus tard, KLÖCKER effectua des expériences analogues, et il en résulta que les blocs de plâtre donnèrent toujours des résultats meilleurs et plus constants que les blocs d'argile, tant par rapport au nombre des spores formées que par la précocité de leur formation (Voir la note relative au mémoire de NIELSEN dans le résumé des *Comptes Rendus des Travaux du Laboratoire de Carlsberg*, vol. III, 1894, p. 176).

d'avoir un point de départ fixe et des résultats absolument certains.

C'est pour ce motif qu'on doît songer à recourir à d'autres procédés qu'à ceux qui ont été employés jusqu'ici ; déjà Hansen, afin d'obtenir des cultures de spores pures, cultivait la levure sur la gélatine stérilisée en chambre humide sur le porte-objet du microscope ou dans des ballons dont l'air était saturé d'humidité.

D'après les essais effectués dans le laboratoire de Carlsberg, il n'existe pas de meilleur moyen d'obtenir une bonne production d'ascospores que la culture sur blocs de plâtre, il était donc désirable de ne pas abandonner ce milieu et de chercher un dispositif approprié mettant à l'abri de toute contamination possible, sans qu'il puisse nuire à la sporulation des levures.

Le vase à culture qui va être décrit s'est montré remplir ces conditions importantes. Il consiste en un vase à culture de Hansen (1), dans l'intérieur duquel se trouve scellé verticalement un petit cylindre de plâtre. On peut aisément monter soi-même ces petits cylindres, faciles à introduire par le col du matras, en gachant 2 volumes de plâtre 3/4 de volume d'eau. On ménage deux creux aux extrémités de ces cylindres ; l'un sert à recevoir ultérieurement la levure ; l'autre doit s'adapter à la convexité du fond du matras, de façon à ce qu'il soit bien vertical et bien au centre du vase. Ce cylindre, convenablement installé, d'une hauteur atteignant près des deux tiers de la hauteur du flacon, on le consolide en faisant couler au fond du matras un peu de bouillie de plâtre qui ne tarde pas à faire prise et à sceller le cylindre, qui s'élève comme une petite tour ou un piédestal minuscule dans l'intérieur du flacon.

Veut-on employer ce matras pour une culture ? On le stérilise au préalable pendant, environ, une heure et demie à 115 degrés, après avoir fermé la tubulure latérale

(1) Le matras d'Hansen n'est autre que le flacon à capuchon rodé de Freudenreich, muni, à l'épaulement rond de sa partie supérieure, d'une tubulure latérale fermée par l'intermédiaire d'un bout de tube de caoutchouc dans lequel s'engage un court tube de verre garni d'un tampon de coton ; cette tubulure oblique est inclinée d'environ 45 degrés sur la verticale (note du R. P.).

avec un tampon de coton. Le vase refroidi, on place à l'aide d'une pipette flambée, une goutte de culture chargée de levure dans la concavité supérieure du bloc, en soulevant rapidement le capuchon. Puis on enlève promptement le tampon de coton de la tubulure latérale, par cette ouverture on introduit une quantité d'eau stérilisée capable de noyer à moitié le cylindre vertical de plâtre et on rebouche cette tubulure avec un morceau de tube de caoutchouc contenant, à une de ses extrémités, un petit tube de verre garni de ouate. Il va sans dire que ce tube de caoutchouc, ce tube de verre et le coton que ce dernier renferme, sont stérilisés au préalable et que la ouate est faiblement tassée de façon à permettre à l'air de pénétrer dans l'intérieur du matras, ce qui n'augmente aucunement les chances de contamination. Lorsque le petit bloc de plâtre est complètement imbibé d'eau et que sa surface supérieure est luisante, on porte le matras à la température favorable à la formation des spores. Après s'être servi du bloc on le nettoie avec un pinceau à soies raides.

Les nombreux essais comparatifs, faits avec les blocs de plâtre ordinaires disposés dans des godets de verre et avec les cylindres de plâtre installés dans les matras dont il vient d'être parlé, ont montré qu'à l'égard du nombre des spores formées (nombre compté directement), il n'y avait aucune différence et que la durée de la formation de ces spores était la même. Par contre, les cultures faites avec les matras Hansen se différenciaient essentiellement de celles des godets en ce que *les cultures des matras se trouvaient toujours être des cultures pures*, même quand ces matras avaient été ouverts plusieurs fois, tandis que les cultures en godets étaient, ordinairement, plus ou moins infectées de bactéries, bien qu'on eût préparé ces cultures avec des précautions spéciales. Dans ces essais, on a employé divers Saccharomycètes vrais, les uns jouissant de la faculté très développée de donner des spores, les autres possédant ce pouvoir à un degré moindre ; le *Saccharomyces Ludwigii* a été de même utilisé. Ces essais furent effectués à 25 degrés C., et toujours dans des conditions identiques ; c'était la même jeune végétation de levure fraîchement préparée qui servait à ensemencer les deux

séries de blocs de plâtre, de façon qu'une comparaison réelle put avoir lieu. A la température de 25 degrés, on ne trouve pas, comme on vient de le dire, de différence prononcée quand au nombre et à la rapidité de formation des spores. Au contraire, en employant une température peu voisine de la température la plus favorable à la formation des spores, on pouvait supposer qu'on trouverait une différence nettement accusée, selon qu'on se servirait de godets ou de matras. Dans ce but, je fis, à 15 degrés, des essais analogues à ceux que j'avais pratiqués à 25 degrés ; nonobstant, même dans ce cas, je constatai qu'il n'y avait pas de différence dans les résultats obtenus.

De ce qui précède, il ressort que le matras à cylindre de plâtre qui vient d'être décrit est indiqué quand on désire conserver aux cultures sporulées leur entière pureté ; toutefois, comme cette manière d'opérer entraîne des manipulations plus longues que celles qu'exige la culture sur plâtre en godets de verre, il est probable que cette dernière sera encore préférée dans les recherches courantes.

SUR LA LONGÉVITÉ DES GERMES DES BACTÉRIES

DANS LES POUSSIÈRES ET DANS LE SOL

Par le Dr P. MIQUEL

C'est en 1879 et 1880 que je m'occupai pour la première fois de doser exactement les bactéries des poussières, du sol et des boues ; ce travail était le complément de mes analyses sur les bactéries tenues en suspension dans l'air et les eaux, dont les résultats statistiques étaient déjà publiés dans les *Annuaires de l'Observatoire de Montsouris*. Mes premiers essais sur l'analyse bactériologique des poussières et du sol firent l'objet de plusieurs notes parues en 1881 (1) et 1882 (2) ; ils établissaient que les terres étaient très riches en microbes, surtout en bacilles ; que leur nombre allait rapidement en diminuant avec la profondeur, etc., et d'autres faits que j'ai eu la satisfaction de voir confirmer par ceux qui, après moi, se sont occupés des mêmes questions.

En terminant ma lecture, effectuée en juin 1881 à la *Société botanique de France*, je disais :

« Le temps a d'ailleurs une action funeste bien nette sur les germes de certaines bactéries, et, d'ici à quelques années, j'ai l'espoir de publier une étude intéressante sur la longévité des germes, en désignant exactement les espèces dont les spores meurent au bout de quelques mois comme celles dont les semences vivent fort longtemps. »

Je viens aujourd'hui tenir ma promesse.

Mais avant d'exposer les résultats qui découlent de mes

---

(1) Miquel — Sur le dosage des bactéries dans les poussières et dans le sol (*Bull. de la Soc. botan. de France*, 1881. XXVIII, p. 44).

(2) Miquel — Bactéries répandues dans les poussières et dans le sol (*Ann. de l'Observ. de Montsouris* pour l'année 1882, pp. 499 à 511).

expériences, reportons nous en 1880, époque à laquelle la bactériologie était le lot de quelques rares auteurs. Les procédés d'analyse de l'air, du sol et des eaux, employés alors, étaient basés sur la dilution préalable des divers éléments à doser en bactéries dans de l'eau stérile et sur la répartition raisonnée et méthodique de l'eau ainsi infectée dans un nombre élevé de flacons de bouillon, de façon à obtenir seulement le tiers ou le quart de cas d'altération. Quand les résultats sont tels que je le dis, il est assez rare que plusieurs particules bactérifères soient introduites dans le même flacon de liquide nutritif. Du reste, j'ai établi, il y a une dizaine d'années, en opérant comparativement avec les milieux gélatineux, qui n'ont été vulgarisés qu'à partir de 1883 et 1884, quelles pouvaient être les limites d'erreur de la méthode de la dilution et du fractionnement que j'ai longtemps employée. Quand à la technique du dosage des terres et des poussières, je ne l'ai point changée depuis ma communication du mois juin 1881 à la *Société botanique de France.*

« Prenons le cas le plus simple: il s'agit de calculer le nombre des bactéries contenues dans une poussière répandue sur un meuble, une feuille de papier, etc... Avec un pinceau très propre ou une barbe de plume soigneusement désinfectée, on ramasse les poussières, qu'on amène finalement dans une feuille de platine flambée, façonnée en gouttière ouverte par les deux bouts. Cette sorte de nacelle ainsi chargée est tarée; puis son contenu est vidé dans un ballon d'eau stérilisée à 110 degrés, pendant plusieurs heures. Une nouvelle pesée permet de connaître, à quelques dixièmes de milligramme, le poids des poussières introduites dans le ballon. C'est là une première donnée qu'il importe de déterminer avec le soin le plus scrupuleux.

« Pour fixer les idées, supposons que le poids de ces poussières atteigne 135 milligrammes et que le ballon où elles ont été versées contienne 250 centimètres cubes d'eau privée de microbes. En agitant quelque temps le contenu du ballon, on parvient sans peine à noyer les particules les plus graisseuses et à produire un liquide uniformément trouble, une sorte d'émulsion homogène dont

chaque centimètre cube contient $0^{mgr},54$ de détritus atmosphériques.

« Avec l'aide d'une pipette jaugée et parfaitement flambée, 10 centimètres cubes de cette eau louche sont versés dans un nouveau ballon contenant 240 centimètres cubes d'eau stérilisée. Chaque centimètre cube de cette seconde dilution ne titre plus que $0^{mgr},0225$ des poussières primitivement pesées ; aussi le liquide est-il à peu près limpide.

« Quand on opère avec les poussières dont il est ici question, les germes des bactéries suspendues au sein de la liqueur sont assez espacés les uns des autres pour se prêter aux ensemencements qui vont nous permettre de les compter.

« Soixante à quatre-vingts flacons de bouillon neutre reçoivent alors chacun une goutte de la seconde dilution. Pour ne pas abandonner les données numériques déjà adoptées, supposons qu'il ait fallu ensemencer 69 flacons de bouillon pour employer 2 centimètres cubes de l'eau de la seconde dilution titrant $0^{mgr},0225$ de poussières par centimètre cube. Le poids total des particules semées s'élève évidemment à $0^{mgr},045$.

« Si 28 des flacons s'altèrent uniquement sous l'influence des Schizophytes, tandis que les 41 autres restent limpides ou montrent uniquement des Moisissures, on est en droit de conclure que $0^{mgr},045$ des poussières analysées renferment au moins 28 germes de Bactéries rajeunissables dans le bouillon neutre ; ce qui équivaut à 620.000 bactéries par gramme de la poussière considérée.

« Pour doser avec exactitude les bactéries mélangées aux sédiments atmosphériques, il ne faut pas se contenter d'un seul essai, etc... (1).

Actuellement, au lieu d'introduire 2 centimètres cubes de cette seconde dilution dans 69 flacons Pasteur de *bouillon Liebig neutre*, je fractionne ce volume dans 10 plaques de *gélatine peptonisée* contenue dans des flacons coniques à capuchons rodés. Voilà toute la différence qui sépare

(1) Miquel. *Bulletin de la Société botanique de France*, 1881, t. XXVIII, page 47.

les numérations des bactéries des poussières que j'ai effec tuées il y a 17 ans, et celles que je viens de pratiquer avec la même poussière recueillie sur les étagères de la bibliothèque de Montsouris, le 6 décembre 1880.

Puisqu'il est question de dosages bactériologiques, voici, également, comment je pratiquais vers la même époque les numérations des germes du sol, quand je désirais comparer les résultats obtenus avec ceux que fournissaient les poussières sèches. Cette nouvelle citation m'évitera d'entrer dans de longs détails sur la façon dont a été préparé le vieil échantillon de sol de Montsouris qui a servi à mes récentes expériences.

« Au point de vue quantitatif, disais-je alors (1), les analyses microscopiques du sol s'exécutent comme celles des poussières déposées spontanément dans l'intérieur des maisons et sous les abris. Cependant, pour rendre comparables les résultats de ces dosages, il est utile de soumettre la terre à analyser à quelques préparations préliminaires, dont les principales sont la dessication et la pulvérisation. On opère la dessication de la terre en la plaçant en couches minces au fond de boîtes métalliques percées d'ouvertures latérales, afin de permettre à la vapeur d'eau de s'échapper. Après l'action prolongée durant 24 heures, d'une température voisine de 30 degrés, la terre devient friable. Elle est alors désagrégée par un cylindre métallique roulant sur une feuille de clinquant. La poussière résultant de cette trituration est de nouveau placée à l'étuve à 30 degrés pendant un jour et une nuit, puis tamisée à travers une toile métallique présentant environ 9 mailles par millimètre carré de surface et ensuite pesée et dosée comme cela a été indiqué pour les sédiments atmosphériques. Il est bien entendu que les boîtes, les feuilles de clinquant, le cylindre, les nacelles, etc., employées à ces manipulations, doivent subir un flambage préalable.

« Personne ne songe évidemment à me reprocher de négliger, dans ces diverses opérations effectuées au contact de l'air, les causes d'erreur venues de l'extérieur ; elles sont, comme on le pense, trop faibles pour préoccuper l'obser-

1 Miquel, *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour l'an. 1882, p. 508.

vateur. En effet, en supposant la chute de 100 et même de 1.000 germes de bactéries sur les 30 à 40 grammes de terre manipulés, ce chiffre ne saurait fausser les données numériques d'un essai où les unités négligées sont ordinairement de l'ordre des dizaines et des centaines de mille.

« La cause d'erreur qui pourrait invalider sérieusement les résultats obtenus proviendrait de la pullulation des bactéries des poussières et du sol dans l'eau stérilisée employée à les émulsionner; or, en une heure et même en deux heures, il n'est pas de semence desséchée de bactérie qui puisse dans l'eau et à la température ordinaire fournir un nouvel être doué d'une vitalité indépendante de la cellule germe. La durée d'incubation d'une spore de bactérie placée à l'étuve à 30 degrés, dans des liqueurs éminemment nutritives, est beaucoup plus longue ; dans les cas les plus favorables elles paraît exiger de 5 à 6 heures. »

Quand on a intérêt à doser exactement au point de vue qualitatif et quantitatif les bactéries des terres, des sables, des boues à l'état humide, afin de ne pas détruire par la dessication un grand nombre de microorganismes adultes qui ne supportent pas plus de quelques heures la privation d'eau, on dilue ces terres, encore humides, avec le secours du mortier si cela est nécessaire, et, ultérieurement, par des pesées opérées et avant et après la dessication de ces terres ou de ces boues, on établit le chiffre des bactéries de ces substances considérées comme sèches à la température indiquée, c'est-à-dire de 30 degrés. Le sous-sol parisien perd environ dans ces conditions une quantité d'eau variant de 15 à 20 p. 100; les boues suivant leur nature de 30 à 60 p. 0/0.

Quand on donne le résultat d'une analyse microbienne d'une substance solide, il est donc indispensable d'indiquer : si les analyses ont été effectuées avec la substance humide et si les chiffres que l'on publie se rapportent au poids de la matière sèche ou chargée d'eau, telle qu'elle l'était au moment du prélèvement. Il importe, en effet, de ne pas oublier que les terres, comme les eaux naturelles, sont chargées d'un grand nombre de bactéries fragiles qui disparaissent promptement à la moindre dessication. Il ne sera pas parlé dans ce travail de ces schizophytes éphé-

mières, puisque ceux qui nous intéressent ici sont précisément ceux qui peuvent résister longtemps au manque d'humidité.

POUSSIÈRES D'APPARTEMENT

Ces poussières sont très dissemblables selon qu'on les recueille sur les meubles, les consoles, les cadres des portes, etc., où elles sont venues se déposer lentement avec une foule de particules diverses provenant des tissus et des dépouilles des animaux vivants, et suivant qu'on les prélève sur le sol des habitations foulé par la semelle des chaussures souillées des impuretés qu'elles empruntent au sol des rues ; ces dernières, recueillies par le balayage, se montrent par leurs caractères macroscopiques et microscopiques d'une composition intermédiaire entre la terre et les poussières déposées spontanément à la surface des objets. A volume égal, elles sont plus lourdes et plus chargées de microbes que les poussières proprement dites, et plus légères et moins peuplées de bactéries que le sol des rues.

La poussière qui va être étudiée dans ce paragraphe ayant été recueillie sur les étagères de la bibliothèque de l'Observatoire de Montsouris, le 6 décembre 1880, elle appartient par conséquent à la première catégorie des sédiments dont il vient d'être parlé.

Cette poussière enfermée à cette date dans des tubes de verre scellés montre encore aujourd'hui tous les caractères physiques qu'elle présentait il y a 17 ans ; elle est sèche, légère, un peu feutrée ; au microscope elle laisse apercevoir de nombreuses fibres textiles, incolores ou colorées, des détritus d'origine végétale, des poils de plantes, des graines d'amidon, des pellicules épidermiques, des pollens desséchés, etc... ; on y aperçoit en outre de nombreuses semences cryptogamiques dont quelques-unes ont conservé leur aspect habituel et leur couleur normale; les particules minérales : le charbon, le silex, les sels de chaux, le lapis lazuli, y sont comme toujours très abondantes. Le seul caractère qui permette de reconnaître qu'on a sous les yeux des poussières

très âgées peut être tiré de ce que les pollens sont déformés ainsi que les semences cryptogamiques volumineuses pluricellulaires.

Deux dosages bactériologiques de ces poussières, effectués le 6 décembre 1880 par la méthode du fractionnement dans des conserves *de bouillon Liebig neutralisé*, accusèrent:

1er dosage	760.000 bact. par gram.
2e dosage..........	740.000 bact. par gram.

Le chiffre des spores cryptogamiques qui fournirent un mycélium visible dans ce bouillon fut trouvé égal à 1.450.000. Le chiffre des spores de mucédines vivantes à cette époque était donc environ le double du nombre des bactéries.

Au parc de Montsouris, où l'air est 20 et 30 fois plus pur qu'au centre de Paris, on ne doit pas s'étonner de trouver dans les poussières un chiffre de bactéries aussi faible; du reste, dès 1880 j'ai démontré que les poussières de l'appartement que j'occupais, à cette époque, rue Monge, dans le Ve arrondissement, accusaient 2.100.000 bactéries par gramme de détritus déposés à la surface des meubles; chiffre comme on le voit trois fois plus élevé que le chiffre calculé pour les poussières de l'Observatoire situé près des fortifications, à une altitude élevée et au milieu d'un parc couvert de végétation.

Les dosages bactériologiques des poussières mentionnées, conservées pendant 17 ans en tubes scellés, effectués, le 4 mai 1897, ont donné les résultats qui suivent:

1er Essai sur gélatine pept	....	45.000	bact.	par gram.
2e Essai	»	55.500	»	»
3e Essai	»	60.000	»	»
4e Essai	»	49.000	»	»

Un essai spécial effectué comme en 1880 par la méthode du fractionnement dans les milieux nutritifs liquides donne 52.700 bactéries par gramme de poussière, d'où une teneur moyenne de 52.450 bactéries.

Mais comme les milieux nutritifs employés en 1897 sont environ 4 fois plus sensibles que ceux qui avaient été utilisés en 1880, pour avoir la proportion exacte des bactéries disparues, il faut, ou multiplier par 4 les chiffres obtenus en 1880, ou diviser par le même nombre ceux que fournit aujourd'hui l'expérience, et on constate ainsi que les Schizomycètes des poussières sont morts dans la proportion de 98.3 p. 100.

Quant aux spores des mucédinées dont plusieurs résistent, comme l'a établi Pasteur, aux températures élevées (125 degrés) quand elles sont sèches, les analyses actuelles démontrent que ces semences sont complètement mortes. Ce fait est d'autant plus remarquable que dans les poussières considérées, leur nombre atteignait, il y a 17 ans, près de 1.500.000 par gramme de sédiment atmosphérique.

Voyons maintenant quelles sont les bactéries qui ont pu résister pendant si longtemps à l'état sec ; pour avoir un terme de comparaison précis, reportons-nous aux dosages qualitatifs de ces poussières effectués en 1880.

A ce moment on y trouvait sur 100 schizophytes :

Micrococques	28
Bacilles....................	66
Bactériums	6

Par le mot *bactérium*, les botanistes désignaient, à cette époque, les microorganismes le plus souvent groupés par paire, presque globulaires, *mobiles*, non sporulés, d'une existence éphémère, comme, par exemple, le *Bacterium termo*. Depuis on a, avec raison, rangé cette classe de microbes parmi les Bacilles.

L'examen systématique de toutes les colonies développées sur gélatine à la suite des ensemencements pratiqués avec les poussières datant de décembre 1880, comme des bouillons altérés par ces mêmes sédiments, a établi : qu'à côté des spores des moisissures les micrococques et les bactériums étaient tous morts ; que les individus ayant résisté au temps appartenaient sans exception à la classe des bacilles. Parmi ce dernier, on a pu caractériser : plusieurs

espèces thermophiles capables de se développer en moins de 24 heures dans le bouillon de peptone maintenu à 65 degrés ; des bacilles subtils venant former à la surface des bouillons des pellicules ridées, jaunâtres, très cohérentes et sur gélatine de petites membranes recroquevillées, rapidement liquéfiantes, d'autres colonies ont été trouvées formées par le *Bacillus mesentericus vulgatus* pur et de très beaux spécimens de *Bacillus megatherium.* En outre, les urobacilles ont été rencontrés en très grand nombre, tandis que les espèces anaérobiennes de la putréfaction ont paru faire défaut. Le même échantillon de poussière inoculé aux animaux n'a pas déterminé de troubles sensibles.

Combien sont différents, au contraire, les résultats qu'a donné l'échantillon de terre, vieilli de même en tube scellé, et dont il me reste à parler !

(*A suivre.*)

REVUES ET ANALYSES (1)

Dr L. de Martini. — **De la manière de se comporter du sérum antidiphtéritique à l'égard du filtre Chamberland** (*Centralblatt für Bakteriologie*, première section, XX, p. 796).

On a proposé, pour assurer la stérilité du sérum antidiphtéritique, de le filtrer à la bougie Chamberland, et il paraît que quelques fabriques de ce sérum emploieraient ce procédé.

L'auteur a voulu s'assurer si le sérum qui passe la bougie possède le même nombre d'unités antitoxiques (comptées d'après la méthode de Behring) que le sérum non filtré. Pour cela le filtratum était recueilli à quatre périodes de la filtration et essayé sur des animaux.

En même temps, l'auteur déterminait le résidu de 5 centimètres cubes de chaque fraction. La quantité de sérum filtré était de 300 centimètres cubes dans une première expérience. Le résultat fut le suivant :

	SERUM ORIGINAL	FRACTION 1	FRACTION 2	FRACTION 3	FRACTION 4	DÉPOT DU FILTRE
Volume en cmc.	300	92	67	25	14	86
Nombre d'unités antitoxiques par cmc.	166	125	30	5	1	400
Résidu sec.	105,7 0/0	9 0/0	4,15 0/0	2,47 0/0	2,18 0/0	22,20 0/0

Dans une autre expérience, on filtra 100 centimètres cubes de 500 centimètres cubes de sérum :

	SÉRUM ORIGINAL	FILTRATUM
Volume	520	100
Nombre d'unités antitoxiques	140	15
Résidu sec	10,35 0/0	2,60 0/0

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

De ces expériences et des suivantes, que le lecteur trouvera dans le travail de M. Martini, l'auteur tire les conclusions suivantes :

1° Le sérum antidiphtéritique perd une notable quantité de ses propriétés antitoxiques et de son résidu sec par la filtration. Cette diminution est rapide et progressive, de sorte que les dernières parties du filtratum ne représentent plus qu'un liquide incolore, clair, aqueux, presque entièrement dépourvu d'antitoxine et ne donnant qu'une minime quantité de résidu sec à l'évaporation. Par contre, la teneur en antitoxine et en résidu sec des parties restées sur le filtre augmente d'autant plus ;

2° Si l'on reprend avec de l'eau ce qui est resté sur le filtre et qu'on filtre cette solution, il passe proportionnellement plus d'antitoxine à travers le filtre ;

3° Les bougies filtrantes ne donnent pas toutes des résultats égaux ;

4° Même un sérum très actif ne laisse passer que très peu d'antitoxine par le filtre ;

5° A la diminution d'antitoxine dans le sérum correspond toujours une diminution du résidu sec ; cette diminution n'est cependant pas proportionnelle, mais variable. Ainsi, dans une expérience, le nombre des unités antitoxiques était tombé à un quart, tandis que le résidu avait baissé de moitié environ seulement.

Ce procédé de stérilisation des sérums antitoxiques doit donc être rejeté.

E. F.

Dr Dorst. — **Du rôle des hématomes dans le cours des infections** (Travail de l'Institut bactériologique de l'Université de Berne du professeur Tavel).

En raison de l'importance que les hématomes ont en chirurgie, Lwowitsch a fait une série d'expériences, à l'instigation du professeur Tavel, avec le bacille du tétanos. Il constata qu'une émulsion de bacilles tétaniques introduite, même très diluée, dans un hématome, provoque une réaction, tandis que celle-ci ne se produit à la suite d'injections intramusculaires ou sous-cutanées que quand le nombre des germes introduits est très considérable, un nombre restreint de bacilles ne provoquant, dans ce cas, pas de réaction. Le Dr Dorst expérimentait avec des staphylocoques. Voici les résultats obtenus :

LAPINS AVEC HÉMATOME		LAPINS DE CONTROLE SANS HÉMATOME	
		Injection intra-musculaire	Injection sous-cutanée
1/8 d'anse de platine	pas de réaction	pas d'expérience	pas d'expérience
	abcès.........	»	»
1/2 d'anse de platine	mort..........	»	»
	mort..........	»	»
1 anse	mort..........	0	0
	abcès..........	0	0
2 anses de platine.........		0	0
4 — —		0	0
		0	hyperémie
6 — —		mort	mort
8 — —		mort	mort

Ainsi qu'on le voit par ce tableau, 4 anses de platine inoculées par la voie sous-cutanée au lapin sain font moins d'effet —, 8, par contre, plus d'effet qu'un huitième d'anse dans l'hématome. Le coefficient de la disposition créée par l'hématome est donc 40 (entre 4 et $6 \times 8 = 40$).

Des expériences faites avec le pneumocoque donnèrent des résultats analogues à l'auteur, ainsi qu'en fait foi le tableau ci-dessous :

HÉMATOME	HÉMATOME	HÉMATOME	INJECTION SOUS-CUTANÉE	INJECTION SOUS-CUTANÉE	INJECTION SOUS-CUTANÉE
1/100 de cm. Mort	1/25 de cm. Mort	1/10 de cm. Mort	1/10 de cm. 0	1/4 de cm. 0	1 cm. Mort.

E. F.

N. P. Schierbeck. — **De l'action de l'acide carbonique sur la croissance et la production de toxines du bacille diphtéritique** (*Archiv für Hygiene*, XXVII, p. 339).

On admet généralement qu'une réaction un peu alcaline est ce qui convient le mieux aux cultures bactériennes. Souvent cependant, grâce à la production d'acide carbonique par les bactéries, le terrain devient, au moment où la culture se développe avec le plus d'abondance, légèrement acide, et M. Schierbeck s'est demandé si ce n'est pas, au contraire, une légère acidité du milieu qu'il faudrait rechercher. A cet effet, il s'est servi du bacille diphtéritique, pour étudier en même temps l'influence de la réaction sur la production des toxines. Six ballons de bouillon légèrement alcalin

furent inoculés avec le bacille diphtéritique ; deux furent laissés tels quels à l'étuve, deux autres furent traversés par un courant d'air atmosphérique débarrassé d'acide carbonique, et les deux derniers par un courant d'air atmosphérique chargé d'environ 8 p. 100 d'acide carbonique. Un et deux jours plus tard, il fit des plaques pour déterminer le nombre des bacilles; or, dans les ballons sans acide carbonique, la croissance avait été absolument nulle, tandis que, dans les autres, surtout dans ceux traversés par le courant d'air chargé d'acide carbonique, elle avait été abondante. Il en résulterait donc qu'une réaction alcaline entraverait le développement du bacille de la diphtérie. M. Schierberck se servit alors d'un bouillon légèrement acidifié, et il vit le bacille diphtéritique s'y développer abondamment.

Lorsqu'on emploie un milieu absolument neutre, la croissance est moins rapide au début. Il semblerait donc que la production d'acide carbonique, en neutralisant la réaction généralement alcaline des milieux de culture, favoriserait la croissance. Naturellement, la production d'acide ne doit pas s'exagérer, sans cela elle devient une entrave.

Pour étudier la production des toxines, M. Schierbeck se servit de bouillon ordinaire et de bouillon traversé par un courant d'air et d'acide carbonique, mais chargé en même temps de carbonate de chaux pour neutraliser la surproduction d'acide. Le résultat fut que dans ces derniers la production de toxine fut beaucoup plus active.

Ceci expliquerait peut-être les résultats différents obtenus par les auteurs qui ont employé la méthode préconisée par M. Roux et consistant à faire traverser les ballons de culture par un courant d'air; ces différences pourraient, en effet, tenir à ce que les uns employaient un air très pur, et les autres un air plus chargé d'acide carbonique (air du laboratoire).

E. F.

Dr A. Cantani. — **De l'action des bacilles de l'influenza sur le système nerveux central** (*Zeitschrift für Hygiene und. Infectionskrankheiten*, XXIII, p. 265).

Ainsi que l'ont montré les recherches de MM. Pfeiffer, Voges, etc., on ne réussit pas à produire, chez les animaux, sauf chez le singe, une véritable infection avec le bacille de l'influenza. On peut bien les tuer en leur inoculant de fortes quantités de bacilles, mais la mort est la suite d'une intoxication et non pas d'une infection. Partant du fait que les produits toxiques des bacilles de l'influenza ont une action marquée chez l'homme sur le système nerveux, l'auteur a pensé que les inoculations produiraient peut-

être le caractère d'une véritable infection, si elles étaient pratiquées dans la substance nerveuse. A cet effet, il a trépané des lapins et leur a inoculé dans le cerveau des quantités de culture assez petites pour exclure toute idée d'une intoxication. Dans ces conditions, la mort s'ensuivit avec pullulation des bacilles de l'influenza dans le cerveau et dans la moelle épinière. A l'autopsie, on retrouva les symptômes des maladies infectieuses, exsudat sanguin dans la cavité péritonéale, gonflement de la rate, hypérémie des reins, etc.

L'auteur paraît donc avoir réussi à reproduire chez ces animaux une vraie infection avec le bacille de l'influenza. Il a également pu augmenter considérablement la virulence de ce dernier par des passages successifs dans le cerveau du lapin. En effet, tandis qu'au début la dose mortelle minimale était de 3 milligrammes de culture sur agar (agar et sang), elle tomba, après 5 passages, à 1/2 milligramme.

E. F.

Prof. D.-V.-C. VAUGHAN et Georges D. PERKINS. — **Un bacille toxique trouvé dans de la crême glacée et dans du fromage** (*Archiv für Hygiene*, XXVI, p. 308).

En août 1895, les auteurs eurent à analyser une crème glacée qui avait provoqué des symptômes d'empoisonnement chez plusieurs personnes d'un village (une cinquantaine). Au mois d'octobre de la même année, on leur envoya un morceau d'un fromage qui avait également rendu malades plusieurs personnes (12) d'une autre localité qui en avaient mangé. Dans ces deux cas, ils retrouvèrent un microorganisme identique qui paraît avoir été la cause de ces intoxications. Les premiers symptômes, consistant en maux de cœur, vomissements, suivis quelquefois de diarrhée, s'étaient produits de 3 à 6 heures après l'ingestion des aliments incriminés. Le symptôme le plus inquiétant était la faiblesse cardiaque ; cependant tous les malades purent être sauvés.

Le microorganisme trouvé par les auteurs dans ces deux cas est un bacille croissant aussi bien dans les cultures aérobies que dans celles tenues à l'abri de l'air. Sa forme dépend un peu du milieu. En général, ce sont des bâtonnets 2 à 3 fois aussi longs que larges. La plupart du temps, ils sont isolés, mais ils forment parfois des filaments composés de 2 à 4 individus. Quelquefois aussi on constate des filaments plus longs et des formes se rapprochant des microcoques. Les individus pris sur une culture d'agar de 24 heures ont en moyenne $1^{\mu},72$ de longueur sur $0^{\mu},86$ de largeur. Des spores n'ont pas été observées.

Le bleu de méthylène ne colore pas les bacilles retirés d'une

culture sur agar de 8 jours ; ils prennent bien, au contraire, la fuchsine carbolisée. Les préparations faites au moment de la mort des animaux d'expériences, se colorent bien avec les couleurs d'aniline basiques. La méthode de Gram décolore ce bacille.

Ce microorganisme est mobile.

Dans les piqûres sur gélatine, on constate de la croissance le long du trajet de l'aiguille ; à la surface, il y a un peu d'accroissement autour du point d'inoculation. La gélatine n'est pas fluidifiée. Après 24 heures au plus, on constate une ou deux bulles de gaz le long de la piqûre. La culture en surface est blanchâtre. Sur les plaques de gélatine, les colonies sont rondes, ovales ou de forme irrégulière ; à la surface, elles sont granuleuses et ont un noyau plus foncé.

Sur agar les cultures sont étendues, blanchâtres et vitreuses. Quand l'agar est additionné de sucre de raisin, il y a production de gaz.

Le bouillon, tenu à 37 degrés, se trouble en 12 heures ; plus tard, on voit des flocons se former d'où sortent des bulles de gaz. En présence de sucre de raisin, la production de gaz est plus forte.

Le lait est caillé en 12 à 14 heures à 37 degrés. Les cultures, dans ce milieu. ont une odeur d'éther butyrique. La fermentation du sucre de lait est totale après environ un mois.

Ce bacille fait fermenter le sucre de raisin, le sucre de lait, le sucre de canne, la maltose, la dextrine, l'amidon et le glycogène.

Sur pomme de terre, ce bacille forme un enduit jaunâtre, épais, visqueux. La croissance est la même que la pomme de terre soit alcaline ou acide. Il croît bien aussi sur d'autres légumes et fruits.

L'optimum de température est aux environs de 38 degrés, cependant il croît bien à partir de 25 degrés ; au-dessus de cette dernière température, la croissance est lente ou nulle.

Ce bacille supporte bien le froid ; des cultures restées gelées 29 jours se montrèrent encore vivantes, une température de 40 à 45 degrés ne le tue pas, même après 20 heures. Il supporte aussi une température de 45 à 50 degrés pendant 31 heures, mais, après 47 heures, il fut trouvé mort. A 54 degrés, il est tué en 8 heures ; à 100 degrés, en 1 minute. Il supporte le sublimé à 1 p. 1.000 de 1 à 6 minutes, mais 8 minutes de contact le tuent. L'acide phénique à 2 p. 100 le tue en 2 minutes ; une solution à 1 p. 100 le tue en 10 minutes

Ce bacille ressemble beaucoup, on le voit, au bacille coli ; il en diffère cependant par ceci : 1° Le nouveau bacille ne donne pas la réaction de l'indol ; 2° Les deux caillent le lait, mais le nouveau bacille plus rapidement que le b. coli ; 3° L'odeur d'éther butyrique ne se développe pas dans les cultures sur lait du b. coli ; 4° Le nouveau bacille croît bien sur les raves avec une odeur aigre,

tandis que le B. *coli* ne s'y cultive que maigrement, sans donner la même odeur.

Ce microorganisme est pathogène pour le cobaye, le lapin, le chat, le chien, la souris et le rat. Une série de passages augmentent sa virulence. Les cultures dans le lait sont les plus virulentes. De même, si l'on injecte à un animal 1 centimètre cube de lait additionné de 1/50 de centimètre cube de culture sur bouillon, il meurt régulièrement en 24 heures, tandis que la même dose dans la même quantité de bouillon ne le tue qu'après plusieurs jours et quelquefois même pas du tout. L'effet pathogénique se produit à la suite d'injections intra-abdominales, intra-veineuses ou sous-cutanées. On retrouve généralement les bacilles dans les organes avec des symptômes d'inflammation. On constate fréquemment des vomissements et de la diarrhée.

Les auteurs cherchèrent à isoler le poison produit par ce bacille, mais ils ne réussirent pas à l'obtenir à l'état de pureté. Ces expériences sont d'ailleurs, comme ils le font remarquer, fort difficiles, car on risque de mettre sur le compte du poison ce qui n'est qu'un effet des réactifs employés. Quand on emploie, par exemple, l'alcool, celui-ci reste dans les précipités, même après évaporation dans le vide en quantité suffisante pour produire des effets marqués sur les animaux. L'éther, fréquemment, n'est pas pur; ainsi le résidu de 50 centimètres cubes de certains éthers suffit, dans leurs expériences, pour tuer un cobaye en 10 minutes. Ils avaient pensé d'abord que cette toxine était peut-être identique au tyrotoxicon, mais elle s'en distingue par son action sur le cœur. Elle ne produit pas non plus les contractions de l'intestin que l'on observe chez les animaux empoisonnés par le tyrotoxicon. Une cuisson d'un quart d'heure diminue à peine la toxicité de ce nouveau poison.

E. F.

Prof. Dr Max Schottelius. — **Sur la croissance des bacilles diphtéritiques dans le lait** (*Centralblatt für Bakteriologie,* 1re section, XX, p. 897).

Le lait a souvent été accusé de propager la diphtérie. Pour cela, l'auteur a pensé qu'il serait intéressant d'étudier la manière de se comporter du microorganisme dans ce milieu. A cet effet, 6 ballons de lait stérilisé, 6 autres de lait fraîchement trait, et, à titre comparatif, 6 ballons de bouillon, furent inoculés chacun avec une anse de culture diphtéritique. Après 6, 24 et 48 heures, l'auteur fit avec des dilutions de ces liquides des plaques de gélatine et d'agar. Le tableau suivant indique les résultats :

	Plaques de gélatine a la température de la chambre Nombre des colonies par centimètre carré		
	Après 6 heures	Après 24 heures	Après 48 heures
Bouillon.................	4-6	5-8	10-12
Lait stérilisé.....	0 3	3-6	8-10
Lait cru.................	12-16	30-40	environ 75
	Plaques d'agar tenues a 37°		
	Après 6 heures	Après 24 heures	Après 48 heures
Bouillon.................	10-15	60	innombrables
Lait stérilisé.............	3-5	25-38	»
Lait cru.................	30-36	plus de 100	»

On voit par ceci que, dans le lait cru, l'augmentation est beaucoup plus rapide que dans le lait stérilisé et que dans le bouillon. Le lait cru pourrait, dans le cas échéant, être un excellent véhicule du microbe diphtéritique. Or, ce cas se présentera souvent; en effet, on voit parfois les paysans des environs des villes se servir d'un char d'enfants pour porter leur lait à la ville; si la diphtérie éclate chez eux, et que le char soit contaminé, le lait pourra facilement être infecté pendant le transport.

Il est curieux de voir que les microbes pathogènes ne se comportent pas tous également à l'égard du lait. Ainsi le bacille cholérique y périt rapidement; cette action bactéricide du lait a été constatée par Hesse et par moi-même, et l'auteur dit qu'il a eu l'occasion de s'assurer de la justesse de ces constatations. Le bacille de Loeffler semble donc échapper à cette action bactéricide.

E. F.

R. Koch et J. Petruschky. — **Observations sur les inoculations d'érysipèle pratiquées sur l'homme** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXIII, p. 475).

Les auteurs ont cherché à se rendre compte de la valeur des inoculations du streptocoque de l'érysipèle proposées, on le sait, pour combattre le cancer. Leur travail est riche en faits et observations de toute sorte, dont les principaux sont consignés dans les conclusions que nous transcrivons ici.

1° Les streptocoques auxquels on a conféré par des passages successifs par l'organisme du lapin la virulence maximale pour cette espèce animale, sont inactifs chez l'homme, même inoculés à de fortes doses;

2° Les streptocoques isolés de cas d'érysipèle chez l'homme ne sont pas toujours aptes à reproduire de nouveau un érysipèle chez d'autres personnes;

3° On peut aussi produire un érysipèle chez l'homme par l'inoculation cutanée de streptocoques provenant de processus suppuratifs (péritonites, par exemple);

4° Des personnes différentes se comportent très différemment à l'égard du même streptocoque. Seule l'expérience peut, dans chaque cas, décider quel streptocoque est capable de provoquer un érysipèle chez une personne donnée;

5° Une immunité active contre l'infection streptococienne ne s'acquiert pas par le fait d'avoir surmonté des érysipèles légers à plusieurs reprises;

6° Il n'a pas été possible de donner une immunité passive en traitant les sujets d'expérience antérieurement avec les sérums anti-streptococciens connus;

7° L'action thérapeutique d'inoculations répétées de streptocoques sur le cancer ne peut pas être niée, mais, eu égard à l'affaiblissement qu'elle provoque, elle est trop peu considérable pour que l'on puisse espérer obtenir, par ce moyen la guérison du carcinome.

E. F.

Dr Ludwig Schneider. — **Influence des produits de décomposition sur l'action des alexines** (*Archiv für Hygiene*, XXVIII, p. 93).

On admet, notamment dans l'école de Munich, que les propriétés bactéricides du sang sont dues à une substance albuminoïde dissoute dans le sang et très peu stable, puisque le chauffage à 55 degrés la détruit. Cette substance présumée a été appelée alexine par le professeur Buchner. Mais, tandis que son action bactéricide a été bien étudiée, on ne sait rien encore de l'action des bactéries et de leurs produits sur ces alexines. C'est ce point spécial que l'auteur examine dans le présent travail. Pour cela, il ajoutait au sang des quantités variables d'une culture typhique tuée par un chauffage d'une demi-heure à 60 degrés et examinait ensuite les propriétés bactéricides du mélange sur le bacille typhique et le bacille cholérique par la méthode des plaques. A titre de contrôle, la même expérience était répétée avec le sang additionné d'une même quantité de bouillon stérile (1 centimètre cube de sang + 0,1 centimètre cube de culture stérilisée + 0.9 centimètres cubes de bouillon — 1 centimètre cube de sang + 0,5

centimètres cubes de culture + 0,5 centimètres cubes de bouillon — 1 centimètre cube de sang + 1 centimètre cube de culture — 1 centimètre cube de sang + 1 centimètre cube de bouillon).

Il résulte des expériences de M. Schneider que l'action bactéricide du sang diminue avec la quantité des produits de culture. Plus la dose de culture stérilisée ajoutée au sang était forte, moins l'action bactéricide était marquée, jusqu'à être quelquefois entièrement abolie. Y a-t-il là une action destructive à l'égard des alexines, ou bien les produits de culture agissent-ils en favorisant la croissance des bactéries, par exemple par la destruction des globules sanguins, ce qui aiderait à la nutrition des bactéries? Pour décider cette question, l'auteur répéta l'expérience avec du sérum de sang. Le résultat fut le même; il semble donc que ce sont bien les alexines qui sont directement détruites.

Ce phénomène donne peut-être, en partie du moins, l'explication du fait que, lorsqu'on ensemence de très grandes quantités de bactéries dans du sérum, l'action bactéricide se fait moins remarquer.

E. F.

Dr Alfonso Montefusco. — **De la manière de se comporter du bacille diphtéritique dans les substances alimentaires** (*Annali d'Igiene sperimentale*, VI, p. 425).

Il est toujours intéressant de savoir comment se comportent les bactéries pathogènes à l'égard des substances alimentaires, car si l'une de ces dernières fournit à un microbe pathogène un bon milieu de culture, il pourra arriver, en cas de contamination, qu'elle lui serve de véhicule. Des recherches de ce genre ont été faites pour le bacille typhique, pour celui du choléra et pour la bactéridie charbonneuse. Mais le bacille diphtéritique paraît jusqu'ici avoir été négligé à cet égard, à part un travail de M. Schottelius que nous avons analysé ci-dessus, sur la manière de se comporter de ce microorganisme dans le lait cru et dans le lait cuit, c'est donc une lacune que le travail de M. Montefusco vient heureusement combler.

Eau

L'auteur s'est servi d'une eau stérilisée, de la même eau non stérilisée et de cette eau restée 24 heures dans la chambre. Cent grammes de l'eau étaient inoculés avec 4 anses de platine d'une culture diphtéritique dans du bouillon et, après des temps variables on faisait des numérations (plaque d'agar) et des inoculations à des animaux. Pendant la durée de l'expérience, les matras res-

taient exposés à la température de la chambre. Il résulte de ces expériences que le bacille diphtéritique reste vivant environ un mois et demi dans l'eau stérilisée, 20 jours dans une eau peu riche en bactéries (à sa sortie de la conduite d'eau), et six jours dans une eau très riche en bactéries (l'eau restée 24 heures en chambre avant l'inoculation).

Pour examiner la virulence, le bacille diphtéritique, isolé des plaques, était cultivé dans du bouillon et inoculé à des cobayes; d'autre fois l'eau elle-même était inoculée aux animaux. En résumé on peut dire que dans l'eau stérilisée la virulence du bacille diphtéritique commence à s'atténuer déjà après 2 jours et plus rapidement encore. Dans l'eau très chargée de bactéries la virulence avait déjà totalement disparu à la fin du premier jour.

Lait

Dans le lait cru, tenu à 37 degrés, le bacille diphtéritique commence à diminuer de nombre déjà après 2 heures, tandis qu'à 20 degrés il augmente de nombre pendant les 6 premières heures. Dans les 2 cas, son développement s'arrête après 3 jours et la virulence cesse après 24 heures. Dans le lait rendu alcalin (oxyde de magnésie) également ce fait se produit.

Le lait stérilisé, par contre, constitue un bon terrain de culture pour le bacille diphtéritique. C'est là, on le voit, précisément le contraire des résultats obtenus par M. Schottelius.

Beurre

Pour ces expériences, une émulsion de deux anses de platine d'une culture diphtéritique sur agar avec un peu d'eau stérilisée était mélangée dans un petit mortier avec 50 grammes de beurre frais. Dans ce milieu, le bacille diphtéritique ne resta vivant que 2 jours. Sa virulence s'atténue dès la sixième heure et disparaît entièrement après 12 heures.

Vin

Dans le vin le bacille diphtéritique meurt après 20 à 40 minutes, suivant son degré d'acidité. Les cultures obtenues sur les plaques se montrèrent constamment dépourvues de virulence.

Pain et pâtisseries

Les bacilles étaient inoculés sur la mie et sur la pâte des pâtisseries. Sur le pain, le bacille diphtéritique ne fut plus retrouvé

vivant après 2 jours; la virulence s'atténua aussi dès le début. Sur la croûte, il resta vivant 2 jours.

Sur les pâtisseries préparées avec du rhum et du cognac, la durée de sa vie ne fut que de 24 heures. Sur des biscuits secs, par contre, il put se maintenir en vie pendant 4 jours.

Fruits et légumes

Les bacilles diphtéritiques déposés à la surface de fruits divers s'y sont conservés longtemps vivants, jusqu'à ce que les fruits fussent altérés au point de ne plus pouvoir servir à l'alimentation.

Déposés sur le pulpe d'un fruit coupé en deux (pommes, poires, prunes, raisins, concombres), dont la réaction était toujours acide, les bacilles diphtéritiques étaient généralement détruits après 18-24 heures (dans un cas ils furent retrouvés vivants sur une prune encore après 36 heures). Sur des fruits cuits, dont la réaction était également acide, leur durée ne fut pas plus longue.

Sur les légumes, ce microorganisme se maintint en vie assez longtemps, pendant plusieurs jours, jusqu'à ce que les parcelles de légumes mises en expérience fussent désséchées et devenues immangeables.

E. F.

Dr Gaetano Bernabeo. — **Les causes prédisposantes des localisations bactériennes dans le cerveau** (*Annali d'Igiene sperimentale*, VI, p. 351).

L'auteur a recherché dans ce travail quelles sont les causes qui prédisposent aux localisations bactériennes dans le cerveau. Les microorganismes ayant servi à ces expériences étaient le *Bact. coli*, le bacille d'Eberth, le pneumocoque de Fränkel, le streptocoque de Fehleisen et le staphylocoque pyogène doré. De ces expériences M. Bernabeo tire les conclusions suivantes :

1° Chez les lapins, du moins, la ligature d'une ou des deux carotides est une cause prédisposante pour la localisation dans le cerveau du *Bact. coli*, du bacille d'Eberth et du pneumocoque ;

2° La ligature des deux jugulaires et des autres petites veines de la région antérieure du cou prédisposent encore plus le cerveau à l'attaque de ces microorganismes ;

3° La commotion, la contusion et la compression grave du cerveau préparent cet organe aux localisations du bacille typhique et du pneumocoque de Fränkel ;

4° La lésion des méninges par des substances chimiques irri-

tantes est une cause prédisposante pour les trois microorganismes en question ;

5° En ce qui regarde le streptocoque de l'érysipèle et le staphylocoque pyogène doré, le cerveau n'accuse pas une grande réceptivité à leur égard.

6° La ligature des deux carotides, celle de toutes les veines de la région antérieure du cou et les fortes irritations des méninges sont les seuls désordres suivis de localisation de ces deux derniers microorganismes, au moins en ce qui concerne les lésions produites dans mes expériences.

E. F.

Dr G. B. Mariotti-Bianchi. — **Contribution à l'étude de l'action du sérum de sang des animaux non traités sur les microorganismes et leurs produits toxiques** (*Annali d'Igiene sperimentale*, VI, p. 449).

Le but du travail de l'auteur a été, ainsi que l'indique le titre, de rechercher si le sérum des animaux non vaccinés possède des propriétés antitoxiques et germicides. L'auteur s'est servi du sérum de sang de chiens, de chats et de poules. Il a essayé leur pouvoir antitoxique, immunisant et thérapeutique; en même temps il examinait si ces sérums produisaient à l'égard du bacille cholérique le phénomène de Pfeiffer. Les toxines employées dans ces expériences étaient la toxine diphtéritique et la toxine tétanique.

M. Mariotti-Bianchi résume comme suit les résultats de ses recherches :

1° Il est possible d'obtenir avec le sérum d'animaux non traités (chien, chat, poule) une modification des toxines ou de l'organisme animal auquel on inocule le mélange, de manière à ce que la mort des cobayes survienne presque toujours avec un retard à l'égard des cobayes de contrôle ;

2° Cette action des sérums sus-indiqués est le plus manifeste avec le sérum de chien à l'égard de la tétano-toxine ; avec ce sérum on obtient non seulement un retard de la mort et une moindre intensité des phénomènes tétaniques, mais quelquefois aussi l'absence totale de ces phénomènes et la survie des cobayes ;

3° Les propriétés immunisantes de ces sérums sont très limitées. Je n'ai jamais réussi à sauver les cobayes, et j'ai seulement obtenu des retards plus ou moins considérables de la mort vis-à-vis des cobayes de contrôle ;

4° L'action curative a été absolument nulle;

5° Les sérums de chien et de chat inoculés dans le péritoine des cobayes en même temps qu'un vibrion cholérique très virulent a produit le phénomène de Pfeiffer d'une manière marquée. L'inten-

sité de ce phénomène varie suivant la quantité des vibrions inoculées et plus encore suivant la quantité de sérum injectée;

6° Cependant je n'ai jamais réussi à empêcher les cobayes de mourir de la péritonite cholérique;

7° L'action destructive du sérum sur les vibrions s'exerce par la production d'un exsudat, dans lequel les leucocytes sont en général très abondants. Il n'est pas difficile de constater chez beaucoup de ces derniers une phagocytose très active;

8° En ensemençant *in vitro* des vibrions cholériques dans du sérum normal de chien ou de chat, on peut observer tous les phénomènes décrits par Pfeiffer, Gruber et d'autres auteurs, pour le sérum d'animaux fortement immunisés contre le choléra; ces phénomènes se produisent cependant, dans ce cas, d'une manière très atténuée.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Février* 1897

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 5 du 31 janv. au 6 février. . . .	1.000	1.830	8°,4	24mm,4	S-W	17km,9	62	182
N° 6 » 7 fév. » 13 »	1.500	1.335	7,6	14,3	N-W	14,1	74	157
N° 7 » 14 » » 20 »	3.835	2.665	5,1	0,2	W	11,3	54	139
N° 8 » 21 » » 27 »	3.500	1.000	8,7	0,0	W	11,0	69	124
N° » » » » » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	2.460	1.705	7°,5	38mm9	W	13km,7	259	602
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies symotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (bronchite aiguë, broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Février 1897. Bactéries = 5.500 Moisissures = 3.750 Température = 6°,4

Analyse de l'air au parc de Montsouris

Février 1897. Bactéries = 80 Moisissures = 65 Température = 7°,5

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Février* 1897

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Février 1897	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge	2.440	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant	6.900	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust	5.285	1.825	»	»
» rue Daviel, 10	1.200	2.195	»	»
» rue Montmorency, 8	3.200	2.195	»	»
» rue des Quatre-Fils, 10	4.100	2.195	»	»
» rue de Reuilly, 59	6.750	2.195	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur	84.630	83.300	6°,0	»
» de la Seine à Ivry	71.250	61.730	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	73.750	96.390	6 ,3	Haut. = 4^m,05
» de la Seine au pont de l'Alma	237.500	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	50.000	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	27.500	75.310	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, poste de Garennes	3.000	»	»	»
» ferme de Garennes	50.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain des Noyers	500	»	»	»
» de la Frette	44.500	»	»	»
6° Eaux d'Égout				
Eaux des collecteurs de Paris	7.875.000	18.050.000	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Mars* 1897

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 9 du 28 fév. au 6 mars 1897	3.800	600	6°,7	16mm,0	S-W	»	74	128
N° 10 » 7 mars » 13 » »	3.335	2.000	6,1	9,0	N-W	11km,3	61	151
N° 11 » 14 » » 20 » »	3.500	1.335	9,7	28,7	S-W	18,6	77	137
N° 12 » 21 » » 27 » »	8.665	1.665	13,0	0,3	W	19,0	86	133
N° 13 » 28 » 3 avril »	3.330	2.000	8,9	33,3	W	»	86	127
MOYENNES ET TOTAUX	4.525	1.520	8°,8	87mm,3	W	»	384	676
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies symotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Mars 1897. Bactéries = 1.665 Moisissures = 6.335 Température = 7°,8

Analyse de l'air au parc de Montsouris

Mars 1897. Bactéries = 95 Moisissures = 35 Température = 8°,8

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Mars* 1897

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Mars 1897	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge. .	915	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant.	5.020	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust . . .	5.215	1.825	»	»
» rue des Tournelles, 21	800	2.175	»	»
» rue de Poissy, 27.	800	2.175	»	»
» rue Saint-Lambert, 8	900	2.175	»	»
» rue du Renard, 22	1.200	2.175	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	67.810	83.300	9°,2	»
» de la Seine à Ivry	61.250	61.730	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	108.750	96.390	9°,6	Haut. = 2m,45
» de la Seine au pont de l'Alma.	180.000	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	400.000	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	43.750	75.310	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits poste de Garennes.	1.250	»	»	»
» poste d'Herblay	20.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain des Noyers	125	»	»	»
» d'Asnières	5.750	1.570	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	7.250.000	18.050.000	»	»

Diagnostics effectués par le Laboratoire de Bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois de mars 1897

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	2	4	6	12	9	21	27
De 2 à 5 ans......	6	9	15	27	34	61	76
De 5 à 10 ans......	3	2	5	22	32	54	59
De 10 à 15 ans......	»	1	1	6	6	12	13
De 15 à 30 ans......	1	2	3	11	11	22	25
De 30 à 60 ans......	2	»	2	5	5	10	12
De 60 et au dessus ...	»	»	»	»	»	»	»
Age et sexe inconnus.	»	»	»	»	»	9	9
Totaux.........	14	18	32	83	97	189	221

Total des diagnostics....................	221
Angines diphtériques.....................	32
Angines non diphtériques.................	189
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	14.5 p. 100

Le nombre des diagnostics effectués pour les angines douteuses, en mars 1897, s'est élevé à 221 ; en février, ce chiffre n'était que de 182, d'où un léger accroissement des affections de la gorge. On note également une augmentation dans la gravité de ces affections. Le taux des angines diphtériques, qui était de 10,4 p. 100 en février, s'est élevé à 14,5 pour le mois de mars, ce qui correspond à une augmentation des décès observés à Paris pendant ce même mois.

Durant cette même période de temps, il a été fait 184 diagnostics d'angines douteuses pour les médecins de Paris, 23 et 14 pour les médecins du département de la Seine et de la province.

Tuberculose

Le laboratoire a été appelé, en outre, à effectuer, durant le même mois, 61 autres diagnostics, dont 47 pour des produits morbides soupçonnés tuberculeux, dans lesquels le bacille de Koch a été rencontré 17 fois.

Diagnostics effectués par le Laboratoire de Bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois de d'avril 1897

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	2	2	4	11	6	17	21
De 2 à 5 ans......	6	3	9	22	22	44	53
De 5 à 10 ans......	2	8	10	18	19	37	47
De 10 à 15 ans......	»	»	»	7	5	12	12
De 15 à 30 ans......	2	1	3	5	8	13	16
De 30 à 60 ans......	1	»	1	3	7	10	11
De 60 et au-dessus...	»	»	»	»	1	1	1
Age et sexe inconnus.	»	»	1	»	»	4	5
Totaux.........	13	14	28	66	68	138	166

Total des diagnostics	166
Angines diphtériques......................	28
Angines non diphtériques..................	138
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	16,9 p. 100

Le nombre des diagnostics pour les angines douteuses effectués en avril 1897, par le Laboratoire de Bactériologie de la préfecture de la Seine, s'est élevé à 166, parmi lesquels 28 ont décélé le bacille diphtérique, ce qui relève la proportion des angines à bacilles de Löffler à 16,9 p. 100, alors qu'au mois de février cette proportion était seulement de 10,4 et 14,5 en mars. Bien que le chiffre des angines diphtériques soit peu élevé, on note actuellement une légère recrudescence dans la malignité des affections de la gorge.

Tuberculose

Le Laboratoire de Bactériologie a effectué, en outre, 61 autres diagnostics de maladies contagieuses, parmi lesquels 53 relatifs à la tuberculose où le bacille de Koch a pu être découvert 21 fois.

Le total des diagnostics exécutés pendant le mois d'avril 1897 s'élève donc à 227.

BIBLIOGRAPHIE

Prof. Dr P. von Baumgarten. — **Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen. — Rapport annuel sur les progrès réalisés dans la connaissance des micro-organismes pathogènes** (Braunschweig, chez Harald Bruhn, éditeur).

Le dixième volume des rapports annuels, publiés par M. de Baumgarten sur le progrès de la bactériologie, vient de paraître. Ce volume, qui résume les travaux publiés en 1894, a été un peu retardé à la suite de la maladie du zélé collaborateur de M. Baumgarten, le Dr Roloff. Ce dernier a été remplacé par M. Tangl, et l'auteur du rapport nous promet la publication très prochaine du rapport pour l'année 1895, presque terminé à l'heure qu'il est; celui de 1896 est aussi très avancé.

Comme ses prédécesseurs, le présent volume est une mine inépuisable de renseignements, indispensable à tous ceux qui s'occupent de bactériologie. Ce dixième volume remplit 846 pages, dans lesquelles sont analysés 1593 mémoires. Comme toujours, une table des matières et des auteurs facilite les recherches.

E. F.

PUBLICATIONS RÉCENTES

A. Zeidler. — Ueber eine Essigsäure bildende Termobakterie. Sur une thermobactérie produisant de l'acide acétique (*Centralblatt für Bakteriologie*, 2e section, II, p. 720).

M. Jegunow. — Bakterien-Gesellschaften. Associations bactériennes (*Centralblatt für Bakteriologie*, 2e section, II, p. 739).

Galli-Valerio, Bruno. — Zur Aetiologie und Serumtherapie der menschlishen Dysenterie. De l'étiologie et de la sérothérapie de la dysenterie humaine (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XX, p. 901).

W. Pullmann. — Weitere Mittheilungen über Cladothrix dichotoma und odorifera. Nouvelles communications sur le Cladothrix dichotoma et odorifera (*Centralblatt für Bakteriologie*, 2e section, II, p. 701).

Carl Fricke. — Ueber den sogenannten Bacillus mucosus capsulatus. Sur le bacille dit *mucosus capsulatus* (*Zeitchrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXII, p. 380).

Viciente Curci. — Nuevo fermenti butyrico. Nouveau ferment butyrique (*Anales del Museo national de Montevideo* VII, 1896).

Prof. F. Sanfelice. — Sul azione patogena dei blastomiceti. Sur l'action pathogène des blastomycètes (*Annali d'Igiene sperimentale*, VI, p. 265).

Dr G. Gasperini. — Nuove ricerche sull' actinomicosi sperimentale. Nouvelles recherches sur l'actinomycose expérimentale (*Annali d'Igiene sperimentale*, VI, p. 475).

Prof. Dr R. Pfuhl. — Eine Vereinfachung des Verfahrens zur Serodiagnostik des Typhus. Une simplification du séro-diagnostic du typhus (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXI, p. 52).

A. Stutzer et Hartleb. — Der Salpeterpilz. Le microbe du salpêtre (*Centralblatt für Bakteriologie*, 2me section, III, p. 6).

Dr W. Janowski. — Zur Aetiologie der Dysenterie, De l'étiologie de la dysenterie (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXI, p. 88).

M. W. Beijerinck. — Amibenkultur auf festen Substraten. La culture des amibes sur milieux solides (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXI, p. 101).

L. de Martini. — Zur Differenzirung der Diphterie und Pseudodiphteriebacillen. De la différenciation des bacilles diphtéritiques et pseudo-diphtéritiques (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXI, p. 87).

Prof. Dr Zettnow. — Ueber den Bau der grossen Spirillen. De la structure des grands spirilles (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXIV, p.72).

Dr Alois Lode. — Ueber die Beeinflussung der individuellen Disposition zu Infectionskrankheiten durch Wärmeentziehung. De l'influence exercée sur la disposition individuelle aux maladies infectieuses par la soustraction du calorique (*Archiv für Hygiene*, XXVIII, p. 344).

Dr Th. Axenfeld. — Ueber die chronische Diplobacillen-Conjunctivitis. Sur la conjonctivite chronique à diplobacilles (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXI, p. 2).

Dr Arpad R. v. Dobrzyniecki. — Ueber Leptothrix — Sur les leptothrix (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXI, p. 225).

S. Arloing. — Influence de l'exanthème vaccinal sur les localisations microbiennes (Infection concomittante et infection secondaire) (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 583).

E. Roze. — Sur deux nouvelles bactériacées de la pomme de terre (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 750),

L. Lortet. — Influence des courants induits sur l'orientation des bactéries vivantes (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p 892).

A. Laveran. — Au sujet de l'hématozoaire du paludisme (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 977).

E. Gérard. — Fermentation de l'acide urique par les microorganismes (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 1019).

J. Albarran et E. Mosny. – Recherches sur la sérothérapie de l'infection urinaire (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 1022).

P. Gibier. — Des effets produits sur certains animaux par les toxines et les antitoxines de la diphtérie et du tétanos injectées dans le rectum (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 1075).

P. Viala et L. Ravaz. — Sur le brunissement des boutures de la vigne (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 1142).

B. Renault. — Sur quelques bactéries dévoniennes (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 1226).

E.-S. London. — De l'influence de certains agents pathologiques sur les propriétés bactéricides du sang (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 1278).

S. Arlonig. — Observations et remarques sur le pouvoir bactéricide et la substance bactéricide du sérum sanguin (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 1388).

C. Plusalix. — Action du filtre de porcelaine sur le venin de vipère : Séparation des substances toxiques et des substances

vaccinantes (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 1439).

L. Lortet et Genoud. — Tuberculose expérimentale atténuée par la radiation Röntgen (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXII, p. 1511).

F. Lataste. — Contagiosité et de prophyllaxie de la maladie tuberculeuse de la vigne (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 200).

E. Bourquelot. — Influence de la réaction du milieu sur l'activité du ferment oxydant des champignons (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 260).

H. Pottevin. — Sur un filtre de cellulose (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 263).

E. Bourquelot. — Des composés oxydables sous l'influence du ferment oxydant des champignons (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 313).

F.-J. Bosc et V. Vedel. — Traitement des infections expérimentales (colibacillaires) par les injections intraveineuses massives de la solution salée simple (NaCl à 7 p. 1000) et de leur mode d'action (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 320).

J.-M. Krassilschtschik. — Sur une nouvelle propriété du corpuscule (microporidium) de la pébrine (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 358).

C. Sauvageau. — Sur la fécondation hétérogamique d'une algue phéosporée (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 360).

M. London. — Influence de certains agents sur les propriétés bactéricides du sang (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 382).

J.-M. Krassilschtschik. — Sur les microbes de la flacherie et de la grasserie des vers à soie (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 427).

C. Sauvageau. — Sur la conjugaison des zoospares de l'*Ectocarpus siliculosus* (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 431).

Bosc et Delezeune. — De l'immunité conférée par quelques substances anticoagulantes. De son mécanisme; excitation de la phagocytose, augmentation du pouvoir bactéricide du sang (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 500).

Ch. Achard et R. Bensaude. — Sur la présence de la propriété agglutinante dans le plasma sanguin et divers liquides de l'organisme (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXXIII, p. 503).

P. Maisonneuve. — Expérience établissant la longue conservation de la virulence du venin des serpents (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 513).

Capman. — Sérothérapie antistaphylococcique (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 549).

E. Roze. — Nouvelles observations sur les bactériacées de la pomme de terre (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 613).

R. Dubois. — Sur la luciférase ou zymase photogène des animaux et des végétaux (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 653).

P. Vuillemin. — Sur l'origine de la lèpre de la betterave (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 758).

J. Kunstler. — Recherches sur la morphologie du *Trichomonas intestinalis* (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 839).

P. Viala. — Sur le développement du black-rot de la vigne (*Guignardia Bidwellii*) (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 905).

J. Ray. — Sur le développement d'un champignon dans un liquide en mouvement (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 907).

B. Renault. — Les bactériacées de la houille (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 953).

C. Pluisalix. — Propriétés immunisantes du sérum d'anguille contre le venin de vipère (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 1305).

L. Matruchot. — Sur la structure du protoplasma fondamental dans une espèce de *Mortierella* (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 1321).

E. Roze. — Un nouveau microscope de la pomme de terre, et les parasites de ses grains de fécule (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIII, p. 1323).

L'Éditeur-Gérant : C. NAUD.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

QUE SAVONS-NOUS DE L'ORIGINE DES SACCHAROMYCES?

Par Alb. KLÖCKER et H. SCHIÖNNING

I. — Introduction

Les recherches exposées dans ce mémoire ont été principalement provoquées par les communications publiées dans ces derniers temps par John, J. Juhler et Alfred Jörgensen sur la descendance des Saccharomyces.

Durant ces dix dernières années, on a souvent avancé l'assertion que les Saccharomyces ne sont pas des organismes indépendants, mais simplement des formes évolutives d'autres Champignons. — L'encre a coulé à flots, et les mémoires se sont accumulés à une hauteur prodigieuse, pour discuter la possibilité, la probabilité et les opinions relatives à cette question. Le temps est passé où l'on pouvait accepter de confiance les résultats de ces discussions. Ce qu'on exige aujourd'hui, ce sont des *méthodes claires* et des *preuves exactes*, à défaut desquelles on perd un temps précieux à poursuivre de semblables débats. Si nous nous sommes engagés dans la question que nous allons traiter, c'est surtout pour répondre aux affirmations de M. Jörgensen, le plus ancien élève de M. Emil chr. Hansen et auteur d'un excellent manuel où, comme beaucoup d'autres, nous avons puisé de précieux enseignements. En effet, non seulement Jörgensen confirme les communications de Juhler à l'égard de la possibilité d'une évolution de Saccharomyces chez l'*Aspergillus oryzæ*, mais il va jusqu'à prétendre qu'il a observé le même phénomène chez plu-

sieurs autres espèces de Moisissures. Toutes les recherches auxquelles nous nous sommes livrés et que nous rapportons ci-après établissent que cet auteur a été induit en erreur.

Au point de vue *pratique*, celui qui parviendra un jour à établir les types primitifs qui nous occupent n'aura fait une découverte d'une importance réelle qu'à la condition de pouvoir arriver à transformer les vrais Saccharomyces en leurs types primitifs présumés. Parvenir à ce but serait probablement trouver de nouveaux caractères pour délimiter ces espèces. Toutefois, dans l'état actuel de la science, il ne paraît pas vraisemblable qu'on puisse arriver à résoudre cette question.

Quant à la seconde hypothèse consistant à considérer les Saccharomyces comme des Champignons indépendants, elle ne saurait être exclue, par la raison, mentionnée plus haut, qu'on n'a pû réussir à découvrir un seul fait qui établisse le contraire. Les motifs pour lesquels on refuse l'indépendance aux Saccharomyces échappent d'autant plus aisément à l'esprit qu'on ne refuse pas une individualité propre aux Exoascées. Personne, effectivement, n'a nourri l'opinion ou formulé la supposition que ces derniers Champignons fussent des spécimens des phases évolutives des Champignons supérieurs. Cependant les travaux de HANSEN ont montré que les Saccharomyces offrent précisément les mêmes formes de développement que les Exoascées, que, comme chez elles, on y remarque exclusivement : la forme levurienne, des asques et des mycéliums. Pourquoi alors chercher sans cesse des phases d'involution chez les Saccharomyces et non chez les Exoascées? Car on doit ajouter que *tous les nouveaux types de groupes* ou, si l'on veut, de genres de Saccharomyces (*Saccharomyces anomalus*, *Saccharomyces membranæfaciens* et *Saccharomyces Ludwigii*) se meuvent de même *dans le même cercle morphologique;* ils présentent tous les mêmes caractères morphologiques que les Saccharomyces découverts les premiers ; ils sont constitués par des cellules végétatives bourgeonnantes, des endospores et des mycéliums. N'est-ce pas là un indice que les Saccharomyces n'ont pas d'autres phases d'involution? Leur rang dans les classifi-

cations doit être donc à côté des Exoascées, et c'est, aussi, là que ZOPF les a placés dans son *Manuel des Champignons* (*Die Pilze*).

Les recherches que nous allons rapporter ont réclamé plus de 18 mois, en raison du nombre des expériences, et du fait que plusieurs d'entre elles ont absorbé beaucoup de temps et qu'il a été nécessaire d'en répéter un assez grand nombre. De plus, beaucoup de ces travaux n'ont pu être exécutés que dans des saisons particulièrement favorables à leur réussite.

Bien que ce soient surtout les publications de JÖRGENSEN et de JUCHLER qui nous aient amenés à entreprendre la présente étude, nous avons également cherché à résoudre le problème indiqué en nous plaçant à des points de vue différents de ceux de ces deux auteurs. Dans tous les cas où nous pouvions attendre une réponse des faits naturels, nous n'avons pas manqué de les questionner. Puisse donc notre travail contribuer à mettre un terme aux critiques injustifiées contre l'indépendance des Saccharomyces ; ce résultat obtenu nous estimerons avoir atteint le but que nous visons.

Notre mémoire comprend : un aperçu historique de la question ; des expériences sur les *Aspergillus*, les *Sterigmatocystis* et les *Penicillium ;* des expériences sur les *Dematium*, les *Cladosporium*, etc., ; des expériences sur les *Saccharomyces*, et, enfin, un résumé terminal.

II. — Aperçu historique de la question

En 1837, CAGNIARD-LATOUR, SCHWANN et KUTZING donnent, presque simultanément, la preuve que la fermentation alcoolique était due à un organisme inférieur appelé levure. A cette époque et plus tard encore, l'opinion de beaucoup de naturalistes sur l'origine de la levure se résumait à supposer qu'elle se formait par hétérogenèse.

Plus tard, quelques auteurs considérèrent la cellule de levure comme un organisme indépendant, tandis que d'autres y virent une phase d'évolution, des Champignons supérieurs et notamment des Moisissures. Les partisans

de cette opinion étaient BAIL, BERKELEY, HOFFMANN et HALLIER ; ceux de la première DE BARY (1) et REESS (2), qui ne constatèrent jamais la relation génétique de leur contradicteurs, malgré la répétition de leurs expériences.

REESS est le premier qui ait fait une classification des formes des Saccharomyces. Dans un assez grand nombre de types il avait observé la formation d'endospores découvertes par DE SEYNES dans certaines levures, et il rapporta les Saccharomyces aux Ascomycètes. A ses yeux, cette formation de spores est un signe de l'indépendance des Saccharomyces. Il ne fut pas pourtant, dans cette classification, conséquent jusqu'au bout et donna lui-même occasion aux malentendus qui se sont manifestés dans la suite. Avec DE BARY il a donné un exposé historique de cette question auquel on voudra bien se reporter ; quant à nous, nous allons donner l'historique de ce même sujet depuis les travaux de ces savants jusqu'à nos jours.

En 1871, Bechamp (3) affirme que, dans certaines conditions, les bactéries acétifiantes sont capables de produire de la levure alcoolique. Dans une note parue à la même époque, TRÉCUL (4) admet que les substances albuminoïdes peuvent se transformer en bactéries, en levures alcooliques, ou encore en *Mycoderma*. D'après lui, il n'est pas jusqu'aux bactéries de la fermentation lactique qui ne puissent devenir des levures alcooliques. FRÉMY (5) pense de même que les substances albuminoïdes des jus de fruits peuvent s'organiser et passer à l'état de levure.

En 1872, TRÉCUL (6) annonce avoir transformé en levure des spores de *Penicillium*.

---

(1) A. DE BARY, Morphologie und Physiologie der Pize, Flechten und Myzomyceten, Leipzig, 1866.

(2) MAX REESS, Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. Leipzig, 1870.

(3) A. BÉCHAMP, Recherche sur la nature et l'origine des ferments (*Ann. de Physique et Chimie*, 4e série, XXIII, 1871, p. 442).

(4) TRÉCUL, Recherche sur l'origine des levures lactique et alcoolique (*Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences*, LXXIII, 1871, p. 1454).

(5) FRÉMY (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, LXXIII, p. 1425), dans une discussion à la suite d'une lecture de M. PASTEUR ayant pour titre : *Note sur un Mémoire de M. Lubin relatif aux fermentations.*

(6) TRÉCUL, Remarques sur les levures lactique et alcoolique (*Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences*, LXXV, 1872, p. 1160).

Dans une communication faite en 1874, Duval (1) prétend que la levure peut se transformer en levure d'acide lactique, si on la cultive convenablement.

Suivant Robin (2) (1875), le *Torula cerevisiæ*, le *Mycoderma cerevisiæ* et le *Penicillium* peuvent procéder l'un de l'autre.

En 1876, Pasteur publie ses *Études sur la Bière*. A considérer avec quelle perspicacité et quelle persévérance il réfute les idées avancées par Bail, Berkeley, Hoffmann, Hallier et d'autres auteurs sur le polymorphisme, on croirait que Pasteur était un des défenseurs résolus de l'indépendance des Saccharomyces; cependant ce qu'il dit à ce sujet manque de netteté, et il est malaisé de connaître au juste son opinion. Ainsi, à la page 115 de son ouvrage, il écrit: « Les cellules, ou groupes de cellules brunes qui recouvrent les fruits ou les bois des grappes, sont de véritables germes de cellules de levure, car il serait contraire à la vérité de dire que les formes variées de la germination des poussières à la surface des grains de raisin correspondent toutes à des développements de véritable levure... Mais, je le répète, et c'est là ce qu'il importe de bien noter quant à présent, les cellules de levure naissent de tels ou tels des petites corps brunâtres organisés que le microscope découvre en si grande abondance parmi les poussières de la surface des fruits. »

A la page 165, Pasteur se contente, au contraire, de mentionner les affinités étroites entre le *Saccharomyces pastorianus* et les Moisissures, notamment avec le *Dematium* :

« Les observations qui suivent, relatives au polymorphisme du *Saccharomyces pastorianus*, me paraissent avoir un grand intérêt dans l'histoire des levures alcooliques, parce qu'elles laissent entrevoir d'étroites affinités entre cette levure et des Moisissures d'ordre plus élevé, et précisément avec les *Dematium* qui vivent habituelle-

(1) J. Duval, Nouveaux faits concernant la mutabilité des germes microscopiques (*Journal d'Anatomie et de Physiologie de Ch. Robin*, 1874, p. 489).
(2) Robin, Sur la nature des fermentations en tant que phénomènes nutritifs des assimilateurs des plantes (*Journal d'Anatomie et de Physiologie*, 1875, p. 379).

ment sur les bois morts, de telle sorte qu'entre la vigne et les autres arbustes il y aurait seulement cette différence que, parmi les *Dematium* de la vigne, il en existerait un ou plusieurs qui donneraient des cellules anaérobies, à un certain moment de l'année, et qu'au contraire les *Dematium*, *Alternaria*... des autres arbrisseaux seraient plus habituellement aérobies. Il n'y aurait rien qui put surprendre dans ce résultat, quand on songe que parmi les Mucors, par exemple, il en est également d'aérobies et d'anaérobies, et qu'il existe également des torulas levures, ou anaérobies, et des torulas exclusivement aérobies. »

Enfin, à la page 117 du même ouvrage, après avoir dit que tout porte à croire que le *Dematium* donne de la levure, Pasteur ajoute : « Nous arrivons ainsi à la confirmation d'un soupçon qu'ont eu la plupart des auteurs qui ont beaucoup observé la levure, c'est qu'elle devait être un organe détaché d'un végétal plus complexe. » Le sens des passages que nous venons de citer paraît être que la levure se développe des cellules brunes du *Dematium*, du *Cladosporium*, etc., qu'on trouve communément sur les grains des raisins. Mais Pasteur entend-il par le mot levure les Saccharomyces (cellules de levure à formation d'endospores), ou d'autres cellules de levures (sans formation d'endospores) ? c'est ce que ces citations ne nous apprennent pas. Pas plus ici que dans d'autres passages de ses écrits, cet éminent savant n'a fait de différence entre les espèces classées, depuis cette époque, en vrais Saccharomyces et en non-Saccharomyces, du reste il ne cherchait pas à résoudre cette question importante.

En 1879, Chamberland (1) publia quelques expériences sur le sujet qui nous occupe. Avant que des raisins fussent mûrs, il les entoura de bocaux de verre de diverse nature et emprisonna ainsi ces fruits jusqu'à maturité complète. Il partait des considérations suivantes : Verts, les raisins n'ont pas encore de levure à leur surface ; mais, en revanche, celle-ci abonde en *Dematium*. Or, si ces cellules

(1) Chamberland, Recherches sur l'origine et le développement des organismes microscopiques. Thèse, Paris, 1879, p. 76.

de *Dematium* se transforment en ferments alcooliques, à mesure que les raisins mûrissent et que le milieu nutritif se modifie, il doit se produire une fermentation quand les grains murs séquestrés passent dans un liquide convenable ou qu'on les écrase, ainsi que cela se produit pour les raisins non emprisonnés. Si, au contraire, le *Dematium* est impuissant à engendrer les ferments alcooliques, les grains emprisonnés ne donneront aucune fermentation, et il n'y aura pas développement de cellules de levure. Les expériences de CHAMBERLAND ayant abouti à ce résultat, il en conclut que le *Dematium* ne donne pas naissance aux ferments alcooliques et que les germes de ces derniers, qu'on trouve sur les fruits doux, proviennent des germes de l'air.

La même année, en 1879, PASTEUR publia son : *Examen critique d'un écrit posthume de Claude Bernard sur la Fermentation*, où il rapporte qu'en 1878 il avait fait quelques expériences analogues à celles de CHAMBERLAND, à cela près qu'au lieu de petits bocaux de verre il fit construire une serre autour d'un cep entier, en plein air, sur le terrain même où était la vigne. Il obtint le même résultat que son élève, ce qui ne justifie pas les hypothèses qu'il avait émises dans ses *Études sur la Bière*.

En 1883, BREFELD publie la 5e livraison de ses *Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mykologie* (*Botanische Untersuchungen über Hefenpilz*, I). Par *Hefe* BREFELD entend tout champignon unicellulaire bourgeonnant. Comme Pasteur, il ne fait pas de différence entre les Saccharomyces et les non-Saccharomyces. Il admet que la formation d'endospores ne se constate que dans la levure de vin, et non dans la levure de bière, et n'y voit aucun caractère spécifique du genre Saccharomyces. Il met trop exclusivement en relief comme caractérisant le *Hefe* le bourgeonnement à l'infini, ce que, dès 1866, DE BARY et REESS avaient établi à l'égard de l'*Exoascus*, du *Dematium* et d'autres champignons supérieurs ; mais il passe sous silence le caractère important qui est la formation d'endospores. Il faut attacher moins d'importance à la propriété qu'ont les Saccharomyces de former de l'alcool ; car on peut la constater chez les non-Saccharomyces, et elle peut également

faire défaut chez des Saccharomyces, ainsi que l'a démontré HANSEN.

La manière dont DE BARY et REESS conçoivent le rang systématique des Saccharomyces, en les plaçant parmi les Ascomycètes, n'est point approuvée par BREFELD ; car il nie la présence d'une asque chez les Saccharomyces et voit dans la cellule mère et les spores qu'elle contient un sporange analogue à celui qu'offrent les *Peronospora*, les *Cystopus*, bien qu'antérieurement il ait placé de pair cette cellule mère avec le sporange des Mucors. Dans l'eau, en effet, les conidies que fournissent les deux genres *Peronospora* et *Cystopus* peuvent se transformer en sporanges, car il nait dans leur intérieur des Zoospores, fait qui, d'après BREFELD, serait identique à ce qui se passe chez les Saccharomyces. Voici la substance de son raisonnement: De même que parmi les *Peronospora* l'on ne trouve que quelques types produisant des spores dans les conidies, de même aussi, d'après ce microbotaniste, c'est seulement un petit nombre de types de levures qui donnent des spores. C'est aux types des levures ne donnant pas de spores qu'appartiennent les conidies de levures des Ustilaginées. BREFELD classe donc arbitrairement dans le même groupe les cellules de levure incapables de donner des spores et celles qui en produisent; de ce nombre les Saccharomyces, et, d'après l'exposé qu'il fait des formes levuriennes des Ustilaginées, le lecteur pourrait croire non seulement que ces formes ont la même valeur morphologique que les cellules des Saccharomyces, mais que ce sont précisément ces Ustilaginées qui constituent réellement les types primitifs des Saccharomyces. En tout cas, il s'exprime vaguement à l'égard de cette question. Pas mieux que ses prédécesseurs, BREFELD n'est parvenu à fournir des preuves; il s'est borné à avancer des assertions et des hypothèses.

Parmi ceux qui lui firent opposition, on doit mettre en première ligne HANSEN (1), et, ce qui le poussa à contredire ce savant, ce fut surtout le rôle que les partisans de BREFELD prirent dans le journalisme de la Brasserie et le

(1) E.-chr. HANSEN, Bemerkungen über Hefenpilz (*Ztsche. f. Bierbrauerei und Malzfabrikation*, XI Jahrg., 1883, p. 871).

chaos qu'ils créèrent dans les idées des Zymotechniciens en annonçant, comme actuellement prouvé, que les Saccharomyces étaient une simple phase évolutionnaire de l'*Ustilago*. HANSEN fit ressortir les caractères par lesquels les Saccharomyces se distinguent des autres levures ; il montra que ces caractères ne se trouvent pas dans les cellules de levure des Ustilaginées.

L'année suivante, en 1884, parut la seconde édition de l'ouvrage déjà cité de DE BARY (1). A la page 136 de ce livre, il parle, entre autres choses, de cette rage du pléomorphisme, comme il l'appelle, qui a eu pour origine la théorie de TULASNE sur le pléomorphisme des champignons. Il y cite les *extravagant pleomorphistiche Bestrebungen* de HALLIER, mais refuse d'entrer, à leur sujet, dans plus de détails, parce que ces efforts n'appartiennent qu'à la *Wissenschaftliche Chronique scandaleuse* (2).

DE BARY déplore la confusion jetée, durant ces dernières années, par BREFELD dans la biologie des levures, et il ajoute que cet auteur classe à tort les Saccharomyces, pêle-mêle, avec tous les champignons bourgeonnants. A ses yeux, la place systématique des Saccharomyces est à côté des Exoascées ; toutefois son opinion manque de netteté, car, au genre Saccharomyces, il rapporte aussi plusieurs espèces qui ne donnent pas de spores telles, par exemple, plusieurs types de *torula*, de *mycoderma*, etc...

En 1886, Ludwig (3) fait savoir que dans un flux

---

(1) DE BARY, Vegleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bacterien : Leipzig, 1884.

(2) On se fera aisément une idée de la durée des conceptions purement imaginaires, et des assertions gratuites comparables à celles de HALLIER, en constatant qu'à l'époque actuelle, même en 1896, on les soutient encore dans tout ce qu'elles ont d'absurde. Dans l'ouvrage intitulé : *Die Wunder des Mikroskops oder die Welt im kleinsten Raum*, du professeur Dr WILLKOMM, 5e édition, remaniée par MM. les Drs TRAUTZSCH et H. SCHLESINGER, on lit qu'on a constaté (!) que les Saccharomyces se développent de certaines Moisissures. Les cellules qui résultent de ces dernières secrètent, au dire de HALLIER, des grains (*Micrococcus*) qui, dans les liquides sucrés, se transforment en levures alcooliques et, dans un liquide acide, en bactéries acétifiantes. On y raconte également que, dans la bière stagnante, la levure alcoolique peut se tranformer en microbes acétifiants, et que, si la stagnation se prolonge, ces bactéries produisent des micrococcus incapables de redonner de la levure, mais pouvant amener la putréfaction de la bière ! HALLIER lui-même a publié, en 1896, un livre intitulé : *Die Hefe der Alkoholgährung insbesondere der Biergährung*, où il maintient des assertions analogues.

(3) F. LUDWIG, Ueber Alkoholgährung und Schleimflusse lebender Bäume und deren Urheber (*Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch.* Bd IV, 1886, Heft 11).

muqueux provenant de chênes, il a trouvé un Oïdium, une nouvelle espèce d'Endomyces et un Saccharomyces particulier, et prétend que ces trois organismes se relient génétiquement entre eux.

Hansen (1) nie ce fait en se fondant sur ce qu'après avoir cultivé ces trois espèces à l'état de pureté, dans des conditions très différentes, il n'a jamais observé entre elles aucune relation génétique. Ce résultat fut plus tard confirmé par Brefeld. Cette espèce de Saccharomyces reçut de Hansen le nom de *Saccharomyces Ludwigii*, et lui fournit l'occasion de découvrir des faits intéressants dans d'autres sphères de recherches. Hansen termine ses travaux par ces mots : « Pour qui sonde ce terrain, la tâche ne doit plus consister à discuter sur des probabilités; la littérature est déjà suffisamment riche en hypothèses, aussi, doit-on exiger des essais expérimentaux et des preuves exactes. Nous désirons savoir non pas comment les choses pourraient se présenter, mais comme elles se passent réellement. »

Dans son *Mémoire sur la Germination des Spores des Saccharomyces* (2), Hansen revient sur la question de la filiation de ces champignons. On y retrouve dénoncé comme cause puissante de la confusion qui a régné à l'égard de cette question le fait qu'on n'a pas distingué entre les vrais Saccharomyces et d'autres cellules bourgeonnantes. Les seuls faits qui pourraient faire croire au manque d'indépendance des Saccharomyces résulte des essais de culture dus à Hansen, par lesquels, en effet, il a prouvé que non seulement le *Saccharomyces Ludwigii*, mais encore quelques autres espèces, peuvent donner un mycélium type. Mais c'est aussi là tout, et Hansen termine son mémoire en disant que s'il a découvert la formation du mycélium cela n'autorise pas à voir, dans les Saccharomyces, un simple stade d'évolution d'autres champignons. Un examen attentif des écrits de ce savant fait voir qu'année par année

---

(1) Hansen, Ueber die in dem Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen (*Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.* V. Bd, 1889, nos 19, 20 et 21, p. 632 et suiv.).

(2) E. — Chr. Hansen, Sur la germination des spores chez les Saccharomyces (*Compte Rendu des Travaux du Laboratoire de Carlsberg*, vol. III, 1re livr., 1891, p. 44, et *Annales de Micrographie*, III, p. 449).

sans perdre de vue cette question, il a expérimenté non seulement sur les Saccharomycètes, mais sur d'autres champignons qui étaient regardés ou qu'on pouvait considérer comme capables de donner des Saccharomyces. Il arriva constamment à ces conclusions que par eux-mêmes les Saccharomycètes ne formaient aucun type autre que les Saccharomyces, et qu'aucun des autres champignons essayés n'a pu produire de Saccharomyces.

Cette même année, 1891, BREFELD (1) publie de nouvelles recherches. Maintenant il reconnaît que la formation des spores a lieu même dans la levure de bière. De plus il remet en avant (p. 148-149) son assertion que les Saccharomycètes ne peuvent pas se distinguer des conidies des champignons supérieurs et, à son avis, ils sont de simples lambeaux provenant des phases évolutionnaires des champignons supérieurs; toutefois il ne dit pas de quels Champignons. Constamment gêné par le grand caractère morphologique de la formation des spores chez les Saccharomycètes, il le proclame insignifiant et ajoute que, dans certaines circonstances seulement, ces végétaux peuvent présenter une pauvre formation endogène de spores. Or, il n'est point ici question d'une pauvre ou d'une riche formation de spores, le point important est la *constatation du phénomène de la sporulation.* D'ailleurs, comme il existe des espèces de Saccharomyces dont 99 pour 0/0 des cellules donnent des spores, le qualificatif *pauvre* n'est pas ici applicable.

En 1892, HANSEN (2) publia une nouvelle étude, motivée principalement par la fausse interprétation que BREFELD fit de ses recherches sur l'Endomyces et l'Oïdium. Pour ce qui est relatif à la filiation des Saccharomycètes, HANSEN passe de nouveau en revue les faits, et ceux-ci contredisent toutes les suppositions et les assertions de BREFELD.

La même année, MÖLLER (3) arrive à ce résultat sur-

---

(1) O. BREFELD, Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mykologie, IX Heft, Munster, 1891.

(2) E.-CHR. HANSEN, Kritische Untersuchungen über einige von Ludwig und beschribenen Oïdium und Hefenformen (*Botan. Zeit.*, 50 Jahrg., 1892, n° 19, p. 312).

(3) H. MÖLLER, Ueber den Zelkern und die Sporen der Hefe (*Centralb. für Bakt. und Parasitenk.*, XII, 1892, p. 537).

prenant que les Saccharomycètes n'ont pas de spores du tout. D'après lui, ce qu'on a pris pour telles ne sont que des gouttelettes de graisse, ce qui doit, en conséquence, faire rayer le genre de Saccharomyces des classifications. Autant qu'on puisse le comprendre, MÖLLER, d'accord avec BREFELD, veut rattacher ce genre aux Ustilaginées.

Le mémoire de MÖLLER donna à HANSEN (1) l'occasion de discuter les recherches faites par lui et par d'autres sur le noyau des cellules, l'évolution des spores, sur leur structure et leur germination, et renvoie spécialement à son mémoire sur la germination des spores (2). Peu après, MÖLLER (3) convient qu'il s'est trompé et reconnaît pour des spores les formations endogènes des Saccharomycètes; par conséquent il confirme les observations de HANSEN.

Une trêve de quelques années suit ces premières polémiques scientifiques; mais, de nouveau, elles renaissent et se poursuivent avec vivacité.

Quelque temps auparavant, un japonais, le Dr TAKAMINE, avait commencé des recherches relatives aux procédés en usage pour la fabrication du *Saké* du Japon. Comme on le sait, une Moisissure, appelée *Aspergillus oryzæ*, joue un rôle important dans cette fabrication. De l'année 1889 à l'année 1894, TAKAMINE prit des brevets dans différents pays pour un procédé concernant la fabrication de la diastase et d'une levure avec l'*Aspergillus oryzæ*. A vrai dire, il n'y avait rien de nouveau dans son invention qui est en substance le procédé japonais de la fabrication du Saké. Mais il annonce, comme un fait accompli, que la levure, préparée par sa méthode, provient de l'*Aspergillus* employé, ce qui a pour nous un intérêt tout spécial. Cette opinion était également partagée par KORSCHELT qui, dès 1876, fit une communication détaillée sur la préparation de cette boisson alcoolique. COHN et BÜSGEN, au contraire, n'avaient

(1) E.-CHR. HANSEN, Ueber die neuen Versuche das Genus Saccharomyces zu streichen (*Centralblatt für Bakt. und Parasitenkunde*, XIII, 1893, n° 1, p. 16).

(2) F. JANSSENS, un des élèves belges de HANSEN, constate aussi plus tard la présence de noyaux cellulaires dans les spores des Saccharomycètes (*Centralblatt für Bak. und Parasitenk.*, XIII, 1893, n° 20, p 639).

(3) H. MÖLLER, Neue Untersuchungen über den Zellkern und die Sporen der Hefe (*Ber. d. deutsch. botan. Gesellschaft*, XI, 1893, n° 7, p. 402).

pu trouver de rapports génétiques entre la levure et la moisissure qui vient d'être citée.

Au commencement de l'année 1895, les journaux et les publications périodiques abondèrent en communications sur la grande découverte qui aurait été faite par Takamine. En même temps, on apprit que, durant la fabrication du Saké, la formation de la levure était attribuée aux conidies de l'*Aspergillus oryzæ* encore insuffisamment mûres, qui, au contact du liquide saccharifié, se transformaient en cellules capables de donner jusqu'à 20 0/0 d'alcool.

Vers là même époque parut, dans le *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, (2e section, 1895, n° 1, p. 16), une communication succinte de John, J. Juhler, dans laquelle cet auteur disait purement et simplement qu'il avait réussi à prouver que dans certaines conditions une espèce d'*Aspergillus* engendre un Saccharomyces produisant de l'alcool. Ce devait être là, d'après lui la démonstration péremptoire que les Saccharomycètes descendent des Champignons supérieurs.

Dans le même journal, Alfr. Jörgensen confirma cette communication. Mais Juhler ne dit pas avec quelle espèce d'*Aspergillus* il a expérimenté; on donna pour raison de ce silence mystérieux que, sur cette prétendue découverte, reposait une affaire commerciale et la prise d'un brevet. Aussi n'est-ce que plus tard que les matériaux qui avaient servi à ses expériences furent mis à notre disposition.

Interrogé sur la communication de Juhler, Hansen répondit, dans le *Centralblatt für Bacteriologie und parasitenkunde* (2e section, n° 2, p. 65) que sur le sujet en question son savoir se bornait essentiellement au rapport de Juhler : « Même si les recherches de Juhler sont bonnes, dit Hansen, il n'en résultera pas d'emblée qu'à l'avenir nous devions considérer les Saccharomycètes comme des phases évolutionnaires de l'*Aspergillus*. » Puis s'expliquant ultérieurement sur ce sujet, il termine en insistant sur les exigences de la méthode exacte et du raisonnement logique.

Peu de temps après, Wehmer (1) fait connaître qu'il a

(1) Wehmer, Aspergillus oryzæ, der Pilz der japanischen Sakebrauerei (*Centralb. f. Bakt. und Parasitenk.*, 2e section, 1895, nos 4, 5 et 6).

expérimenté sur l'*Aspergillus oryzæ* sans pouvoir parvenir à constater la formation de cellules de levure.

Après ce travail vient celui de Alfr. Jorgensen (1), qui prétend avoir résolu le problème de la descendance de la levure de vin, parce qu'il croit avoir découvert sur les raisins des Champignons ressemblant au *Dematium* et capables d'engendrer dans leur intérieur et dans certaines conditions des spores qui, transportées dans un liquide nutritif sucré fermentescible, se multiplieraient par bourgeonnement et se transformeraient en vrais Saccharomycètes. On voit donc reparaître ici les vieilles hypothèses qui considèrent les Moisissures comme servant de types primitifs aux Saccharomycètes. Jorgensen termine sa communication en annonçant qu'à l'égard de la production des cellules de Saccharomyces un certain nombre d'*Aspergillus* et de *Sterigmatocystis* présent à la surface des grains de raisins se comporteraient comme l'*Aspergillus oryzæ*.

Dans le même journal périodique et à la même époque, Juhler (2) donne une note un peu plus détaillée sur sa *découverte ;* par elle nous apprenons alors qu'il tient ses matériaux d'expérience de Takamine et que l'espèce sur laquelle il a expérimentée est l'*Aspergillus oryzæ*. De plus, il annonce que les conidies de cette espèce, en tombant dans le milieu nutritif saccharifié par l'*Aspergillus*, se transforment en cellules de levure, qui ont toutes les propriétés d'un vrai Saccharomyces; en un mot, *il reproduit en substance les assertions* de Takamine, Plus bas, il ajoute que les cellules de Saccharomyces sont impuissantes à reproduire l'*Aspergillus* d'où elles procèdent, ce qui est vraiment fâcheux car on aurait pu, en réussissant cette expérience, combler une lacune importante, c'est-à-dire donner la preuve réelle du fait qu'il s'agissait de démontrer.

Dans un nouveau mémoire, Wehmer (3) annonce qu'il ne saurait confirmer la découverte de Juhler.

---

(1) Alfr. Jörgensen, Der Ursprung der Weinhefen (*Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, 2e section, 1895, nos 9 et 10, p. 321).

(2) John, J. Juhler, Ueber die Umbildung des Aspergillus oryzæ in einem Saccharomyceten (*Centralblatt für bakteriologie u. Parasitenkunde*, 2e section, nos 9 et 10, p. 326).

(3) Wehmer, Sakebrauerei und Pilzverzuckerung (*Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, 2e section, 1895, nos 15 et 16, p. 565).

Dans sa troisième communication, JORGENSEN (1) donne des dessins de la prétendue formation de cellules de levure, tant chez l'*Aspergillus oryzæ* que chez les Champignons ressemblant au *Dematium*, tandis que KOSAI et YABE (2) contredisent les travaux de TAKAMINE, JUHLER et JÖRGENSEN relatifs à l'*Aspergillus oryzæ ;* par la raison qu'en faisant des cultures sur plaques des organismes qui jouent un rôle dans la fabrication du Saké, KOSAI et YABE ont obtenu simultanément des colonies tant d'un *Aspergillus* que d'un Saccharomyces et qu'ils n'ont jamais trouvé de relations génétiques entre ces deux champignons.

Le moment était venu pour nous de publier le résultat de nos premières recherches. C'est ce que nous fîmes sous la forme d'une communication provisoire dans le *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde* (2e section, 1895, nos 22 et 23, p. 777). Nous y fîmes la critique des mémoires de JUHLER et de JÖRGENSEN, en lui indiquant comme résultat de nos expériences qu'on ne saurait, en aucune façon, justifier les raisons apportées jusqu'ici à l'appui de l'opinion que l'*Aspergillus oryzæ* est capable d'engendrer des Saccharomyces. La même note dit, en outre, que nos essais provisoires sur le *Dematium* concluent de la même façon. Quand au détail de ces recherches, on le trouvera exposé dans la partie qui suit cet aperçu historique.

Parmi les auteurs français qui ont abordé la même question, il faut également citer SOREL (3). Lui aussi parle de la production des cellules de levure chez l'*Aspergillus oryzæ.* Il rapporte qu'en semant des conidies de cette moisissure sur du moût de malt en présence d'acide fluorhydrique anhydre ou d'alcool on provoque la formation de cellules de levure et une fermentation alcoolique. Toutefois l'évolution des cellules n'a pas pour point de départ les conidies, comme le pensent JUHLER et JÖRGENSEN, mais le mycélium.

---

(1) ALFR. JÖRGENSEN, Ueber den Ursprung der Alkoholhefen (*Ber. d. gahrungspilze. Laborat. von Alf. Jörgensen, zu Kopenhagen*, 1895).

(2) KOSAI et YABE, Ueber die bei der Sakebereitung beteiligten Pilz (*Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, 2e section, 1895, n° 17, p. 619).

(3) SOREL, Etudes sur l'Aspergillus oryzœ (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 1895, t. CXXI, p. 948).

Tandis que ces derniers auteurs ne réussirent, ni l'un ni l'autre, à obtenir l'*Aspergillus* de la levure, ce fut, au contraire, chose facile pour Sorel : il n'eût qu'à semer la levure *bien pure*, suivant son expression, sur du riz gonflé par la vapeur pour voir se former une végétation d'*Aspergillus oryzæ ;* ce qui est aisé à comprendre, les cultures avec lesquelles il opérait n'étant pas pures.

En 1896, parut, dans le n° 1 du *Zymotechnisk Tidsskrift*, un travail de Jörgensen (partiellement traduit en allemand dans le *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde* 1896, n°s 2 et 3, p. 41), dans lequel il se contente de décrire une moisissure ressemblant à l'*Oïdium*, mais qui s'en distingue par ce fait que, si on la cultive sur du moût de bière, elle y forme un voile composé de cellules bourgeonnantes, bien qu'elle n'y produise aucune fermentation. Parmi ces cellules, il s'en trouve de très fortement réfringentes, à parois épaisses; si l'on sème ces végétations sur des blocs de plâtre humide, on voit, au bout de quelques jours, d'après Jörgensen, sortir une ou deux cellules, des cellules primitives; le même fait se produit également pendant la formation de voiles au-dessus d'une solution de dextrose dans de l'eau de levure contenue dans les matras de Freudenreich. A l'égard de la valeur morphologique de ces productions, nous sommes, toutefois arrivés à une autre idée ; car dans le type *Oïdium* de Jörgensen, nous n'avons pu arriver à observer la formation endogène de cellules. Comme cette question n'a aucun rapport direct avec le sujet de la descendance des Sacchromycètes, nous n'entrerons pas dans de plus longs détails sur ce point; d'autant plus volontiers que, si dans cette même communication Jörgensen parle de types de transition entre les Moisissures et les Saccharomyces, ses explications verbales nous empêchent de croire qu'il regarde cet Oïdium comme donnant des cellules de Saccharomyces; il emploie simplement ce mot dans une acception morphologique comparative, ayant surtout trait aux productions ressemblant aux Chlamydospores. Il n'est donc ici question que *de types hypothétiques* et non *de types réels de transition.*

De la dernière partie de la communication danoise donnée dans le *Zymotechnick Tidsskrift*, il ressort que,

si pendant quelque temps Jörgensen a cru avoir trouvé une méthode grâce à laquelle les Moisissures pouvaient donner des Saccharomyces, *il n'en est pas moins arrivé à constater qu'une semblable méthode n'existe pas*. De même que ses collaborateurs : Holm, Rafn, Brusch et Bendixen, il a été la victime d'illusions produites par l'examen au microscope de *cultures impures*. Comme on l'a vu par ce qui précède, ce n'est pas la première fois qu'une semblable erreur se produit, et ces auteurs ont partagé le sort de plus d'un expérimentateur habile. Nous pouvons ajouter que Juhler vient de reconnaître l'illusion qui l'avait abusé dans une lettre qu'il nous écrit.

Les deux dernières contributions à cette série de recherches parurent simultanément durant le printemps de l'année 1896. L'une provient de Seiter (1), l'autre de nous (2) ; Seiter fait connaître qu'il est arrivé exactement au même résultat que nous, tant à l'égard de l'*Aspergillus oryzæ* que du *Dematium*, du *Cladosporium*, etc. Ailleurs, également, les assertions avancées par Takamine, Juhler et Jörgensen n'ont pas été confirmées ; le professeur Wortmann, de Geisenheim, nous communique que les recherches qu'il a exécutées dans ce sens lui ont donné des résultats complètement négatifs, tant à l'égard de l'*Aspergillus* qu'à celui du *Dematium ;* le Dr Will, de Munich, s'exprime dans le même sens.

Nous avons donc suivi à travers un quart de siècle la question de l'origine des Saccharomycètes, et nous avons vu que pas plus dans ce laps de temps qu'auparavant il n'a pas été donné une seule preuve montrant que ces Champignons sont une phase évolutive de types plus élevés en organisation.

Dans les communications provisoires qui viennent d'être indiquées, nous avons promis d'établir, sur de nombreuses expériences, les critiques que nous avons formulées. Nous allons tenir cette promesse. Comme nous en avons déjà

---

(1) O. Seiter, Studien über die Abstammung der Saccharomyceten Bayer, *Brauer-journal*, VI, Jahrg. 1896, n° 13, p. 145).

(2) A. Klöcker et H. Schiönning, Experimentelle Untersuchungen über die vermeintliche Umbildung verschidiner Schimmelpilze in Saccharomyceten (*Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, 2e section, 1896, nos 6 et 7, p. 185).

dit un mot dans notre introduction, nos recherches dépassent de beaucoup la sphère des idées où se meuvent celles de JUHLER et JÖRGENSEN, car nous nous sommes efforcés d'explorer toutes les voies par lesquelles l'état actuel de la science permet de supposer qu'on arrivera à jeter la lumière sur cette question, sans cesse mise en avant, de la descendance des Saccharomycètes. Il y avait donc lieu à se livrer ici à des recherches multiples, qui, autant que possible, envisageassent le problème à résoudre sous toutes ses faces. C'est le résultat d'un semblable travail que nous présentons dans les pages qui suivent.

(*A suivre.*)

SUR LA LONGÉVITÉ DES GERMES DES BACTÉRIES
DANS LES POUSSIÈRES ET DANS LE SOL

Par le Dr P. MIQUEL

Poussières du sol

Les dosages bactériologiques des terres, avons-nous dit, réclament ordinairement quelques manipulations que ne nécessitent pas les analyses des poussières. Ces dernières sont, en effet, l'objet d'une sorte d'aérolévigation par les courants de l'atmosphère toujours impuissants à soulever les particules solides d'un fort volume et d'une densité élevée. C'est pour cette raison qu'elles sont toutes prêtes à être dosées après leur prélèvement ; elles possèdent le degré de tenuité réclamé pour les dilutions, etc.

Si on cherche, au contraire, à doser les terres telles qu'on les recueille à la surface ou dans la profondeur du sol, on les trouve mêlées à toute sorte de détritus : feuilles sèches, bois morts, grains de graviers volumineux qui enlèvent aux pesées l'exactitude qu'elles doivent présenter. Aussi pour rendre les dosages comparables entre eux, dès 1879 j'ai cru devoir les faire sécher au préalable à 30 degrés, pendant 2 jours, de façon à pouvoir les pulvériser facilement, les débarrasser des trop grandes impuretés et les émultionner avec un poids connu d'eau stérile.

Quand on a intérêt à analyser microscopiquement les terres à l'état humide, on se trouve dans l'obligation de les monder à la pince des particules les plus grosses, d'opérer des dilutions avec des quantités de terre plus élevées, et de déterminer ensuite leur poids après dessiccation, si on veut ramener les résultats obtenus à la constante qu'on obtient en soumettant le sol, le sable, les poussières à une dessiccation à 30 degrés pendant 48 heures. Exposés à ce

degré de chaleur, en couches suffisamment minces, ces divers éléments ne perdent plus ultérieurement qu'une quantité d'eau parfaitement négligeable dans les dosages qui nous occupent, mais le nombre des bactéries qu'ils contiennent diminue dans des proportions énormes. La terre que nous allons étudier, prélevée sous une pelouse du parc de Montsouris, le 20 mai 1881, à 20 centimètres de profondeur, accusait à cette date à l'état frais et à la dose d'un gramme 6.500.000 de bactéries; après 48 heures de dessiccation à 30 degrés et pulvérisation, elle n'en décelait plus que 3.920.000, soit environ deux fois moins; l'eau qu'elle avait perdu s'élevait à 17,8 p. 100.

Il est, en général, utile de faire deux essais de la terre qu'on analyse: l'un avec la terre naturelle non séchée, l'autre avec la même terre privée d'eau à une température peu élevée; ce qui renseigne, d'abord, sur le nombre des espèces adultes ou très fragiles qui ne peuvent résister au manque d'humidité et puis sur le chiffre des bactéries ou de leurs spores qui peuvent être enlevées vivantes par les courants de l'atmosphère, portées dans l'intérieur des habitations et se déposer sur les meubles en conservant, comme on vient de le voir, pendant au moins 17 ans, leur vitalité.

Ces analyses ne sont pas entièrement dépourvues d'intérêt dans les villes où les inhumations s'effectuent dans les quartiers habités. A Paris, par exemple, pour ne citer que les cimetières les plus importants, on compte encore trois nécropoles d'une surface étendue : les cimetières de Montmartre, du Père-la-Chaise et du Montparnasse.

Les microbes du sol que l'on voit rapidement disparaître, avec la profondeur, dans les terres arables sont loin dans ces terrains saturés de cadavres, autrement dit de substances organiques variées, de décroître avec la promptitude dont je vais donner une idée.

En 1880, à une époque où l'on faisait une tranchée au Champ-de-Mars pour établir un égout à l'École militaire, j'eus la curiosité de prélever dans la tranchée, nécessitée par l'établissement de cette conduite souterraine, trois échantillons de terre, l'un à la surface, les deux autres à 1 mètre et 2 mètres de profondeur. Voici les résultats qui furent obtenus.

Terre prélevée au Champ-de-Mars en novembre 1880

	Échantillons de terre	
	Humide	Desséchée 48 h. à 30°
Bact. p. gr. à la surface.........	4.000.000	850.000
— à 1 mètre de prof....	305.000	66.000
— à 2 mètres de prof...	7.100	1.000

Ce liquide nutritif employé était, dans ces expériences, du *bouillon Liebig neutralisé.*

Dans le sol des cimetières parisiens, les chiffres que l'on obtient sont tout à fait différents : les échantillons ont été ici analysés avec la gélatine peptonisée, et le premier prélèvement, dit de surface, a été recueilli immédiatement au-dessous du gazon.

Analyses du sol des cimetières effectuées en 1895

	Échantillons humides Bactéries par gramme de terre sèche		
	Square des Innocents	Cimetière du Père-Lachaise	Cimetière du Montparnasse
A la surface.....	10.710.000	19.000.000	29.000.000
A 0^m,50.........	9.500.000	14.750.000	16.000.000
A 1^m,00.........	3.000.000	13.200.000	19.600.000
A 1^m,50.........	1.440.000	3.360.000	6.900.000
A 2^m,00.........	1.080.000	5.400.000	4.600.000
A 2^m,50.........	»	»	5.900.000

Il est facile de déduire des chiffres qui précèdent que, si le nombre des microbes diminue rapidement avec la profondeur dans la terre ordinaire, il n'en est pas de même dans les terrains où l'on inhume de nombreux cadavres et qui, à raison de ce fait, sont remués périodiquement. Le sol du square des Innoccents est, depuis longtemps, à l'état de repos, et malgré cela les substances organiques qui s'y sont accumulées pendant plusieurs siècles sont encore l'objet de fermentations microbiennes qui y maintiennent le chiffre des bactéries à un taux très élevé. Dans les autres cimetières les microorganismes abondent : on les compte encore par millions à 2 mètres et 2^m,50 de profondeur.

Si, parmi les légions des bactéries qui peuplent le sol des cimetières, beaucoup sont inoffensives et n'ont aucune parenté avec celles qui ont occasionné la mort des malades, la terre n'en est pas moins virulente à dose infinitésimale pour les espèces animales auxquelles on l'inocule. La plupart des terres jouissent de même, il est vrai, de la faculté de tuer par inoculation, mais à un degré infiniment moindre.

Il en est, du reste, des sols souillés comme des eaux qui circulent à la surface du sol; on peut, par exemple, injecter impunément à un animal plusieurs centimètres cubes d'eau de la Seine, tandis que quelques dixièmes de centimètres cubes d'eau de la Bièvre lui communique une septicémie mortelle évoluant habituellement en moins de 24 heures.

Mais revenons à l'échantillon de terre prélevé, le 20 mai 1881, dans le parc de Montsouris, à 20 centimètres au-dessous du gazon, séchée pendant 2 jours à 30 degrés, pulvérisée avec des appareils flambés et finalement introduite dans des tubes de verre purgés de germes puis scellés. Ces tubes ayant été entourés dans du papier Joseph et placés dans des armoires n'ont pu être, depuis cette époque, que très faiblement touchés par des radiations lumineuses. De plus, et ce sont là des remarques qui ont leur importance, cette terre est restée au contact d'une atmosphère très limitée d'oxygène et s'est trouvée dans une enceinte où le degré d'humidité était à peu près constant ; ce qui exclut les effets d'une dessiccation lente, mais très prolongée.

Il est, d'abord, au mois de mai dernier, effectué trois dosages qui donnent les teneurs suivantes en bactéries :

Terre conservée pendant 16 ans

1er dosage................	3.680.000	bact. par gramme
2e dosage................	3.310.000	—
3e dosage................	3.760.000	—
D'où la moyenne.......	3.583.000	bact. par gramme

En mai 1881, le même échantillon accusait 3.920.000 bactéries par gramme, en tenant compte du degré de nutritivité du milieu employé à cette époque.

Il résulterait de cette comparaison à laquelle il est

difficile d'accorder une rigueur absolue qu'après une attente de 16 ans la terre conservée en tubes scellés n'a perdue qu'une très faible quantité de bactéries; j'estime qu'en exagérant les écarts que comportent les deux méthodes employées à si longue distance on ne peut, sans s'éloigner de la vérité, supposer que la terre en question a perdu plus de 25 p. 0/0 du nombre de ces microbes. Ce fait peut causer quelque étonnement, mais n'a rien d'invraisemblable. D'abord parce qu'une première dessiccation à 30 degrés avait privé la terre de la majeure partie de ses bactéries adultes, ensuite parce que, déjà à 20 centimètres de profondeur, le sol est peuplé de beaucoup plus de spores que de microorganismes en voie de multiplication, et enfin parce que, pendant 16 ans, l'échantillon de terre considérée a été conservé dans des conditions très favorables à la résistance des spores : à basse température, à l'abri de la lumière solaire, de l'évaporation des dernières traces d'eau et aussi, comme nous l'avons dit, d'une quantité illimitée d'oxygène.

Est-on autorisé à supposer qu'un degré de chaleur peu élevé, par exemple 30 degrés, qu'une dessiccation lente à cette température, *même à l'abri de la lumière*, mais au contact d'une quantité sans cesse renouvelée d'oxygène, soit sans action sur les germes du sol ? Je ne le pense; au contraire, on doit admettre que ces agents sont séparément, à plus forte raison réunis, de puissants moyens de destructions des spores très résistantes des bactéries. Je le prouve par le fait suivant :

Depuis plus de 3 ans je conserve, dans une vaste étuve d'environ 1 mètre cube de volume entre 25 à 30 degrés, dans une boîte en bois de peuplier fermée par un couvercle simplement rabattu, un échantillon de terre de jardin.

Il y a 40 mois environ cette terre accusait, sèche, 2.530.000 bact. par gramme; 20 mois après elle en montrait 510.000, aujourd'hui on n'y en découvre que 24.600 sous le même poids. Par conséquent, les résultats obtenus dans les essais sur la longévité des germes peuvent donner des résultats très différents selon que les terres sont conservées dans des conditions variées.

Les analyses de terre du parc de Montsouris, effectuées

en 1881, après deux jours de dessiccation à 30 degrés, ont accusées, relativement à la nature des microorganismes :

Microcoques..............	5
Bacilles..................	95
Bactérium................	0

Actuellement cette même terre a perdu tous ses microcoques et ne montre plus que des spores bacillaires de nature très diverse, dont le nombre, depuis 16 ans, a très peu diminué si on envisage les résultats fournis par les analyses quantitatives qui viennent d'être données. L'expérience établit, en outre, que ces spores, bien que répandues dans une poussière sèche en apparence, ont eu très peu à souffrir de l'action du temps, car elles peuvent se rajeunir en moins de 12 à 15 heures et tout aussi rapidement que ces germes ensevelis depuis 20 ans dans les cultures liquides que M. Duclaux a eu l'occasion d'étudier. Cette observation me fait supposer que dans 30 et peut-être 50 ans les spores des terres que je conserve en tubes scellés seront encore vivantes, cela ne saurait surprendre beaucoup, puisque les graines de certaines graminées peuvent conserver leur propriété de germer au bout de plusieurs dizaines d'années, même, affirme-t-on, au bout d'un ou plusieurs siècles, et ces graines, on le sait, sont loin de présenter aux agents physiques et chimiques la résistance que les spores y opposent pendant plusieurs heures et parfois pendant plusieurs jours.

D'autres spores, celles des champignons plus élevés en organisation que les bactéries, tels que les moisissures sont, au contraire, aisément détruites par l'action du vieillissement. Ainsi, la terre du parc de Montsouris, prélevée le 20 mai 1881, qui accusait par gramme 45.000 spores de moisissures rajeunissables dans le bouillon Liebig neutralisé, s'est montrée aujourd'hui incapable de montrer le plus petit mycélium, soit dans les milieux de cultures habituels, soit dans les milieux liquides, solides, sucrés et acidulés qui favorisent, on le sait, presque exclusivement le développement des champignons, des torula, des levures vraies et sauvages.

Cette perte de vitalité des spores cryptogamiques sous l'action du temps est curieuse à enregistrer et à rapprocher des expériences de M. Duclaux qui a pu constater que les levures abandonnées pendant 15 à 18 ans dans les milieux qu'elles avaient fait fermenter restaient encore vivantes et capables de provoquer des fermentations après un si grand laps de temps.

Passons maintenant à la détermination de quelques-unes des espèces dont les spores ont supporté, sans dommage apparent, le vieillissement de 16 années.

Parmi les plus nombreuses, nous avons compté les bacilles subtils aérobiens, répandus en si grand nombre dans l'air et le sol et qui se multiplient dans les bouillons en donnant : des ilots, des pellicules ridées, coriaces, blanches ou jaunâtres ; de cette catégorie de bacilles nous en avons compté 7 à 8 espèces et 5 à 6 autres qui croissent sans venir former de voiles à la surface des liquides, mais qui donnent des troubles plus ou moins intenses et des dépôts floconneux comme la bactéridie du charbon ou le *Bacillus megatherium*.

Ce dernier bacille a été trouvé très fréquemment ainsi que divers bacilles de la pomme de terre donnant, suivant les espèces, des pigments diffusibles dans la gélose de couleur noirâtre, brune ou rougeâtre.

Les bacilles thermophyles, dont j'avais signalé l'existence avant la mise en tubes scellés de la terre du parc de Montsouris et que Globig et Rabinowitch ont plus tard étudiés, ont été retrouvés avec toute leur vitalité et si peu maltraités par le temps qu'en moins de 18 heures ils ont envahi les bouillons de peptone maintenus entre 65 et 70 degrés. Ici ces espèces étaient encore de nature variée, et trois d'entre elles, au moins, n'étaient pas identiques à en juger par la façon dont le milieu nutritif était altéré et par la nature des produits alcalins ou acides dont elles avaient déterminé la formation.

Bien que j'ai longtemps étudié les urobacilles, je n'avais aucune idée précise sur la résistance de leurs germes dans la terre sèche abandonnée à elle-même. Quand on les voit survivre sur la gélatine et dans les bouillons ordinaires pendant 2 à 3 ans, on doit s'estimer heureux de les trouver

encore vivants pour servir à de nouvelles cultures; mais je ne m'attendais guère à retrouver pleins de vie les *Urobacillus Pasteurii*, *Duclauxii*, *Freudenrischii* et d'autres bacilles urophages que je n'ai jamais étudié. En 24 heures, ces vieilles spores déterminent la fermentation complète de milieux nutritifs chargés de 15 à 20 p. 1.000 d'urée.

Les espèces anaérobiennes ont été trouvées également en grand nombre et non moins vivantes. Les bacilles des fermentations putrides pouvant déterminer des dégagements gazeux abondants, le ferment butyrique, les clostridium divers, si difficiles à différencier d'après leur forme si voisine, les agents de la fermentation sulfhydrique, cadavérique, fécaloïde, etc., ont été rencontrés dans la plus petite parcelle de cet humus vieux et desséché.

Il serait superflu d'entrer dans de longs détails à cet égard, il suffit, en effet, de rappeler que le nombre des bactéries présentes dans le vieil échantillon de la terre du Parc a perdu au plus le quart ou la cinquième partie des germes qu'elle renfermait en 1881 et qu'alors la plupart des espèces qui ont résisté, à l'exception des microcoques, de quelques bacilles, peut-être asporogènes, et des moisissures, se retrouverait dans l'inventaire actuel des microorganismes du sol où eût lieu autrefois le prélèvement de l'échantillon qui nous occupe. Il résulte donc de cette observation que la majeure partie des spores des bactéries peuvent rester vivantes pendant de nombreuses années.

Quant aux espèces pathogènes qui ont également survécu, j'ai le regret de n'avoir pu les étudier toutes. Avec le peu de terre qui est resté à ma disposition, après que j'ai eu mis en réserve une partie de l'échantillon pour des recherches ultérieures, j'ai inoculé des cobayes sous la peau qui ont succombé au tétanos après une durée d'incubation de 2 jours. Dans le pus des abcès très circonscrits qui ont suivi l'inoculation, le bacille de Nicolaïer a été trouvé en très grande abondance, mélangé à d'autres espèces anaérobiennes, parmi lesquelles ont été retrouvés les bacilles des fermentations putrides signalés plus haut.

Il est vraisemblable que, si les spores du vibrion septique m'ont échappées dans cet essai, elles pourront être isolées dans des expériences de culture et de séparation dirigées

d'une autre manière. Je me propose de les rechercher dans des échantillons de terres de Genevilliers irrigués et non irrigués par l'eau d'égout, recueillies et conservées en tubes scellés en même temps que la terre du parc de Montsouris.

Concluons, seulement aujourd'hui que les spores du bacille du tétanos survivent très aisément pendant 16 ans dans la terre séchée et pulvérisée, mise en tubes scellés et conservée à la température ordinaire.

REVUES ET ANALYSES (1)

P. Salmon. — **Recherches sur l'infection dans la vaccine et la variole** (*Annales de l'Inst. Pasteur*, XI, p. 289).

Dans ce mémoire, qui contient l'historique et la bibliographie du sujet, l'auteur discute et réfute la nature parasitaire des corpuscules observés par Guarnieri, Pfeiffer, etc., dans les lésions vaccinales de la cornée. Il n'accepte pas non plus les théories qui font de ces corpuscules des produits d'altération des cellules épithéliales (fragmentation et dégénérescence chromatolytique du noyau, productions émanées de noyaux bourgeonnants, etc...). Se basant sur les réactions colorantes de ces corpuscules, il les considère comme de petites masses de chromatine ayant pour origine les cellules migratrices. Peu de temps après l'inoculation, le tissu conjonctif est le siège d'un appel phagocytaire remarquable par le petit nombre des cellules migratrices attirés par le foyer infecté, ces cellules se disposent en couronne au seuil de la lésion vaccinale et lui donnent sa forme circulaire, laquelle, vu l'absence de vaisseaux dans la cornée, ne doit pas être attribuée à l'élément vasculaire (action des toxines contenues dans le sang, embolies bactériennes des capillaires, etc..., etc...). Les cellules qui pénètrent dans l'épithélium se déforment, s'émiettent, de telle sorte que, dans chaque cellule épithéliale, se trouvent inclus des débris de leucocytes sous forme d'une masse de chromatine, laquelle constitue le pseudo parasite de la vaccine. R. C.

C.-J. Salomonsen et T. Madsen. — **Recherches sur la marche de l'immunisation active contre la diphtérie** (*Annales de l'Inst. Pasteur*, XI, p. 315).

Les auteurs ont appliqué à la diphtérie la méthode qu'ont employée, en 1892, Ehrlich et Brieger dans leur recherches sur la marche de l'immunisation chez une chèvre vaccinée contre le tétanos (2).

Ce Mémoire, comprenant des graphiques et des tableaux, ne peut être résumé ici. R. C.

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

(2) Ehrlich et Brieger, Beitrage zur Kentniss der Milch immunisirter Thiere (*Zeitschr. f. Hyg.*, XIII, 1893).

Dr G. Pierallini. — **Sur la phagolyse dans la cavité péritonéale** (*Annales de l'Institut Pasteur*, XI, p. 308).

Si on injecte, dans le péritoine d'un cobaye neuf, 3 centimètres cubes d'une émulsion de vibrions cholériques additionnée de sérum préventif, les microbes présentent le phénomène de Pfeiffer, et, peu de minutes après l'injection, le liquide péritonéal devient transparent, par suite de la disparition des leucocytes. Puis, au bout d'une demi-heure ou une heure, les leucocytes réapparaissent, et l'exsudat redevient peu à peu normal. Tel est le phénomène auquel M. Metchnikoff, qui l'a découvert, a donné le nom de *phagolyse*. Selon lui, les leucocytes se dissolvent en partie dans le liquide et se réunissent en partie en amas entourés d'une couche glaireuse sur les parois abdominales et sur les divers organes. M. Durham, de son côté, n'admet pas cette dissolution des leucocytes, et nomme *leucopénie* le même phénomène. L'auteur a reconnu qu'un liquide, quel qu'il soit, injecté à la dose de 3 centimètres cubes dans le péritoine du cobaye, est capable de produire la disparition temporaire des leucocytes de l'exsudat, surtout si ce liquide est injecté froid. En sacrifiant un cobaye un quart d'heure après l'injection d'un liquide phagolytique et d'encre de Chine, il a pu s'assurer que la totalité de la matière injectée se trouvait déposée sur le grand épiploon, et qu'un certain nombre de leucocytes contenaient des grains noirs d'encre. Cependant quelques leucocytes restent vides, la phagocytose est incomplète ; d'autres sont déchiquetés, altérés ; et, si l'on examine une préparation colorée par la méthode de Weigert, on voit que leucocytes et grains d'encre sont emprisonnés dans un reticulum fibrineux. L'auteur en conclut à la destruction d'un certain nombre de leucocytes pendant la phagolyse.

Chez les cobayes, préparés depuis quelques heures par une injection intrapéritonéale de bouillon stérilisé ou mieux d'une dissolution de chlorure de sodium, de potassium ou de lithium et chez lesquels existe une hyperleucocytose très intense, l'étude de la phagolyse a montré à l'auteur que la diminution du nombre des leucocytes est bien plus faible que chez les animaux non préparés ; la phagocytose se montre bien plus énergique, la matière glaireuse et la fibrine manquent presque complètement. Ces faits viennent, semble-t-il, corroborer les résultats obtenus par M. Issaeff en étudiant, chez les animaux ainsi préparés, la résistance aux infections péritonéales.

R. C.

Claudius. — **Méthode de coloration à la fois simple et contrastante des microbes** (*Annales de l'Institut Pasteur*, XI, p. 332).

Cette méthode est basée sur le fait que l'acide picrique en solution aqueuse, ajouté à une solution aqueuse de violet de méthyle, donne un précipité d'une nouvelle matière colorante bleu indigo, insoluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool, le chloroforme et l'essence de girofle ; n'ayant que peu d'affinité pour les noyaux cellulaires et les tissus qu'elle colore en jaune, tandis qu'elle colore en bleu foncé très intense un certain nombre de microbes. Voici la technique à employer.

1° Pour les lamelles: sécher, flamber, colorer dans le violet de méthyle aqueux à 1 0/0 pendant 1 minute, laver à l'eau, puis à l'acide picrique aqueux à demi saturé pendant 1 minute, laver à l'eau, sécher, laver au chloroforme tant qu'il y a décoloration, sécher et monter au baume ;

2° Pour les coupes : celles-ci, très minces et de préférence collées sur la lamelle, seront colorées 2 minutes dans le violet, lavées et traitées 2 minutes par l'acide picrique ; lavées de nouveau, séchées avec soin dans du papier-filtre et décolorées par l'essence de girofle, puis lavées au xylène et montées dans le baume.

L'alcool et l'aniline, employés comme décolorants, donnent de moins bons résultats ; on peut colorer préalablement les noyaux par le carmin au lithium.

Parmi les espèces qui se teignent bien, citons le staphylocoque blanc et doré, le streptocoque, le pneumocoque de Fränkel, le bacille diphtérique, la bactéridie charbonneuse, la tétragène, les bacilles du tétanos, de la septicémie des souris, le vibrion septique, etc., etc. Les bacilles de la tuberculose humaine et aviaire sont difficiles à colorer, le bacille de la lèpre se colore bien, mais se décolore si la préparation est montée dans le baume.

Parmi les espèces qui ne se colorent pas, on trouve les bacilles typhique, *coli commune*, *prodigiosus*, pyocyanique, le vibrion cholérique, le spirille de Metchnikoff, le pneumobacille de Friedlander, le gonocoque, etc.

R. C.

Dr J. Bardet. — **Contribution à l'étude du sérum antistreptococcique** (*Annales de l'Inst. Pasteur*, XI, p. 177).

L'auteur expose en détail les caractères et le mécanisme de l'infection produite chez le lapin et le cobaye par le streptocoque exalté de Marmorck. Chez le cobaye, après l'introduction dans le

péritoine de la dose mortelle de culture (2/10 de centimètre cube), on voit d'abord disparaître les cellules qui peuplaient l'exsudat, et dans les premières heures qui suivent l'injection, apparaissent et se multiplient les phagocytes polynucléaires. Ceux-ci, malgré leur nombre plus que suffisant pour englober la totalité des microbes présents, n'en englobent qu'une partie, et l'on voit persister libres dans l'exsudat un certain nombre de streptocoques auréolés.

A partir de ce moment, microbes auréolés et phagocytes continuent à se multiplier simultanément, et l'animal meurt au bout de 15 ou 20 heures de péritonite purulente, avec pénétration des streptocoques dans le sang.

Si la dose de culture injectée est plus faible, ou bien si, par une injection préalable de bouillon, on a attiré dans le péritoine un grand nombre de phagocytes actifs, le phagocytose se produit alors rapidement et totalement, avant que les streptocoques aient eu le temps de se multiplier et de s'organiser pour la lutte, en s'entourant d'une auréole.

Il arrive, assez rarement du reste, que des animaux guéris subissent spontanément, au bout de quelques jours, une nouvelle infection streptococcique; dans ce cas, les microbes affectent des formes bizarres de chaînes plus ou moins longues, fortement auréolées, formées de grains dont les diamètres sont inégaux. Dans ces cas, il est permis de supposer que les microbes injectés possédaient un degré de résistance extraordinaire et qu'ils avaient été englobés par les phagocytes sans avoir perdu pour cela leur activité.

Le lapin est beaucoup plus sensible que le cobaye au streptocoque de Marmorek; il meurt 8 ou 10 heures après l'injection intrapéritonéale de 1/10 de centimètre cube de culture; la dose mortelle peut s'abaisser à une fraction de millionième de centimètre cubes. Comme chez le cobaye, on constate que les streptocoques s'entourent d'une auréole qui repousse avec énergie les phagocytes ; à l'autopsie, on trouve un exsudat non purulent, rougeâtre, dans lequel l'hémoglobine a diffusé, tenant en suspension quelques globules rouges et blancs dégénérés, n'ayant plus de limites protoplasmiques nettes. Les streptocoques passent dans le sang du lapin beaucoup plus rapidement que dans celui du cobaye; beaucoup plus souvent que le cobaye, le lapin est sujet à des récidives spontanées après guérison apparente.

Le sérum préventif de Marmorek, ne possède *in vitro*, aucun pouvoir bactéricide, qu'il soit seul, additionné de bouillon, ou mélangé avec le sérum d'un animal neuf; il présente, à un faible degré, la propriété agglutinative; il n'exerce aucune influence affaiblissante sur la virulence du streptocoque.

Injecté dans l'organisme, ses effets sont bien différents, et

variables avec la quantité relative et l'âge des cultures inoculées. L'auteur a surtout expérimenté sur des lapins préparés avec une injection intrapéritonéale de bouillon stérilisé qui produit, on le sait, un afflux notable de leucocytes dans l'exsudat.

Si l'on injecte à un lapin ainsi préparé 6 centimètres cubes de sérum préventif (sous la peau) et 24 heures après *une petite quantité* d'une culture jeune de streptocoque (dans le péritoine), on constate bientôt une phagocytose active et complète; il n'y a pas multiplication extracellulaire des microbes et l'animal guérit, alors qu'un lapin témoin, n'ayant pas reçu de sérum préventif, meurt avec les symptômes ordinaires, après avoir cependant présenté une phagocytose très notable.

Si l'on injecte *une grande quantité* de culture, la phagocytose est lente et très incomplète au début; les streptocoques auréolés se multiplient rapidement; mais bientôt on voit l'exsudat changer d'aspect, s'épaissir et se charger d'un nombre considérable de leucocytes. Lorsqu'il a acquis la consistance d'un pus blanc et homogène, une vingtaine d'heures environ après l'inoculation, on constate l'apparition subite de la phagocytose. Quoique tardive, celle-ci est souvent complète et suivie de guérison; cependant, si la quantité de culture injectée était extrêmement grande, on assiste à des rechutes après guérison apparente.

Ce stade de phagocytose tardive est surtout observable chez les lapins préparés par injection péritonéale de bouillon stérilisé, chez lesquels le streptocoque trouve, dès l'abord, un exsudat très riche en leucocytes.

Les lapins ayant reçu du sérum préventif résistent fort bien à l'inoculation sous-cutanée de streptocoque; chez les mêmes animaux, l'inoculation d'une très petite quantité de culture dans l'humeur aqueuse a presque toujours été suivie d'infection généralisée, quoique le sérum préventif employé fut très actif.

R. C.

L. Cobbett. — **Contribution à la physiologie du bacille diphtérique** (*Annales de l'Inst. Pasteur*, XI, p. 251).

L'auteur a reconnu que le bacille diphtérique peut croître facilement dans un milieu alcalin dont l'alcalinite correspond à 30 centimètres cubes d'alcali normal par litre (NaOH); de 30 à 40 centimètres cubes par litre, la culture est retardée; elle devient impossible au-dessus de 40 centimètres cubes.

En milieu acide, la culture est possible tant que l'acidité n'est pas supérieure à 5 centimètres cubes d'acide normal (SO^4H^2) par litre; entre 5 et 12,5, il y a retard; au-dessus, il y a arrêt.

Souvent, en milieu acide, la culture n'a lieu que superficielle-

ment, là où l'air a largement accès. Si l'on disloque la membrane superficielle, elle tombe au fond du vase, et la culture ne se poursuit pas.

La quantité de sucre contenue dans le bouillon préparé avec de la chair musculaire peut expliquer les variations de la réaction des cultures diphtériques. Du bouillon préparé avec de la viande ayant subi un commencement de putréfaction ne devient presque jamais acide sous l'influence du bacille de Loëffler, parce que le sucre que cette chair contient est ordinairement détruit par la putréfaction. Le même bouillon additionné de 0,15 0/0 de glucose devient d'abord acide, puis redevient alcalin ; additionné de 0,45 0/0 de glucose, il devient et reste acide indéfiniment.

La marche du développement de la toxine est à peu près parallèle à celle des produits alcalins ; l'alcalinité peut donc, dans une certaine mesure, servir à apprécier la toxicité, au moins pendant les premiers jours. Vers le milieu de la seconde semaine de culture, la toxicité peut diminuer, et l'alcalinité augmenter ; puis, l'alcalinité diminue à son tour. Les produits alcalins, formés par le bacille de la diphtérie, ne sont pas toxiques et peuvent être séparés par distillation ; l'aération des cultures paraît sans influence sur la production de l'alcalinité ou de la toxine ; pour obtenir rapidement une toxine énergique, il est important de laisser les cultures dans un parfait état de repos.

R. C.

SANGUINETI. — **Contribution à l'étude de l'*Amylomyces Rouxii*, de la levure chinoise et des moisissures ferments de l'amidon** (*Annales de l'Inst. Pasteur*, XI, p. 264).

L'auteur a étudié comparativement l'action sur divers hydrates de carbone de l'*Aspergillus oryzæ*, du *Mucor alternans* et de l'*Amylomyces Rouxii*.

Les résultats de ce travail intéressant, duquel découlent un certain nombre d'applications industrielles importantes, sont contenus dans des tableaux qui mettent bien en évidence les analogies et les différences d'action de ces trois mucédinées.

L'*A. Oryzæ* possède le pouvoir saccharifiant le plus énergique, puis vient l'*Amylomyces*, et enfin le *Mucor alternans*.

L'*Amylomyces* possède un pouvoir ferment plus considérable que les deux autres et un pouvoir comburant moins grand ; il en résulte qu'il est seul susceptible d'être utilisé industriellement soit pour la fermentation directe des matières amylacées, soit pour l'utilisation des vinasses de distillerie. L'auteur en continue l'étude.

R. C.

Dr Taurelli Salimbeni. — **Recherches sur l'immunité dans le choléra. — I. Sur l'agglutination** (*Annales de l'Inst. Pasteur,* XI, p. 277).

En injectant sous la peau ou dans le péritoine d'animaux immunisés activement ou passivement une émulsion des vibrions cholériques, l'auteur a constaté que le phénomène de l'agglutination ne se produit pas dans l'organisme. Au contraire, *in vitro,* le sérum ou les humeurs de ces animaux sont capables, à doses extrêmement petites, de produire, en peu detemps, l'agglutination complète des vibrions.

Le phénomène de l'agglutination *in vitro* découvert par Bardet et qui, suivant Gruber, serait dû à l'action de substances spécifiques particulières (agglutinines) contenues dans le sérum des animaux vaccinés, lesquelles gonfleraient la membrane des microbes et la rendraient perméable à des substances bactéricides (alexines) non moins spécifiques contenues dans le même sérum; ce phénomène, suivant l'auteur, serait sous la dépendance de certaines causes extérieures, telles que le contact de l'air; ainsi, pour certaines doses relatives de sérum et de culture, l'agglutination *in vitro* ne se produit que peu ou pas dans le vide, alors qu'elle a lieu rapidement à l'air libre.

Sans admettre l'explication purement physique proposée par M. Bardet, ni l'explication de M. Gruber que ne justifie pas l'observation directe, l'auteur poursuit l'étude de cette question intéressante et ne retient pour le moment que cette conclusion : le phénomène de l'agglutination, tout au moins pour les vibrions cholériques, se produit exclusivement hors de l'organisme.

R. C.

Dr Felesforo Fiori. — **Sur la vie des amibes dans l'intestin de l'homme sain et de l'homme malade** (*Annali d'Igiene sperimentale,* VI, p. 467).

Des amibes ayant été considérées, par quelques auteurs, comme le facteur de la dyssenterie, il n'était pas sans intérêt de rechercher leur mode de se comporter dans l'intestin humain sain et malade. L'auteur a eu à sa disposition, pour ces expériences, les différentes espèces d'amibes isolées par MM. Celli et Fiocca dans leurs travaux sur la biologie des amibes.

Il a commencé par déterminer la fréquence de la présence des amibes dans l'intestin sain; il a trouvé, chez 39 individus examinés, 2 fois l'amibe oblongue, et 1 fois l'amibe vermiculaire,

soit une proportion de 5,1 0/0. Leur présence serait donc relativement rare.

Il fit alors ingérer ces différentes amibes à quelques sujets et constata que ces organismes ne font que traverser l'intestin; jamais il ne les retrouva au-delà de 7 jours; dans la majorité des cas, elles avaient disparu après 1 et 2 jours. Jamais, non plus, les amibes ingérées ne provoquèrent de symptômes de maladie, pas même l'amibe *coli*.

Chez des malades affectés de gastro-entérite aiguë ou chromique, M. Fiori ne rencontra pas d'amibes. Il profita de ce fait pour étudier le mode de se comporter de l'amibe *coli* dans l'intestin affecté de gastro-entérite, en en faisant ingérer des cultures à ces malades. Les résultats de ces expériences sont résumés dans les conclusions suivantes :

1° L'amibe *coli* trouve dans l'intestin malade les conditions les plus propices pour s'y développer et pour s'y maintenir pendant un temps plus ou moins long. En effet, tandis que dans l'intestin sain on ne le retrouvait dans les fèces que pendant les deux jours suivant l'ingestion, la moyenne, dans l'intestin malade, fut de 7 jours avec un maximum de 18 jours ;

2° L'amibe *coli*, en se développant dans l'intestin malade, n'influence aucunement le cours ultérieur de la maladie;

3° Les conditions les plus favorables à la vie et au développement de l'amibe *coli* dans l'intestin malade se rencontrent dans les formes catarrhales dans lesquelles les sécrétions de la muqueuse entérique sont plus abondantes et les déjections plus liquides ;

4° Il est démontré qu'une amibe isolée de l'extérieur (eau du Nil et de la canalisation d'Alexandrie en Egypte) peut se développer dans l'intestin, ce qui rend inadmissible la séparation que l'on a voulu faire entre les amibes endoparasitaires et celles de l'extérieur.

E. F.

Dr von Schab. — **Contribution à la désinfection des livres des bibliothèques circulantes** (*Centralblatt für Bakteriologie*, XX, p. 141).

Il paraît certain que les livres, surtout ceux des bibliothèques circulantes, peuvent devenir les véhicules de maladies infectieuses quand ils ont été contagionnés par le contact de malades atteints d'affections de ce genre, car il ressort de nombreuses expériences que les bacilles typhiques, diphtéritiques, de la tuberculose, etc., peuvent, malgré la dessication, rester vivants et virulents pendant un temps variant de quelques semaines à plusieurs mois.

Il serait donc utile de posséder un moyen sûr pour désinfecter les livres, mais ce n'est pas une chose facile ; d'une part, on ne

peut employer des liquides qui détérioreraient les livres ; d'autre part, il sera toujours difficile, si l'on emploie des antiseptiques à l'état gazeux, de les faire pénétrer entre les pages.

L'auteur a essayé le mélange Pictet (acide sulfureux mélangé à de l'acide carbonique) et les vapeurs de formaline. Les livres étaient d'abord stérilisés à la vapeur, puis séchés, et ensuite infectés avec diverses espèces bactériennes. Pour cela on enduisait des carrés marqués au crayon des pages du milieu; pour être sûr que la désinfection serait efficace dans la pratique, on choisissait les places situées près du dos des livres, comme moins accessibles aux moyens de désinfection. Les microbes mis en expérience étaient le bacille pyocyanique, le staphylocoque doré et les spores charbonneuses, ainsi que le bacille tuberculeux (dans du sputum).

Les livres à désinfecter étaient placés sous une cloche de verre dans laquelle on faisait le vide et que l'on remplissait ensuite de gaz. Après 48 heures, le bacille pyocyanique ne fut plus retrouvé vivant ; par contre, l'*aureus*. les spores charbonneuses et le bacille de la tuberculose n'étaient pas tuées. En faisant évaporer de l'eau sous la cloche, les résultats furent un peu meilleurs, car on obtint la mort de l'*aureus* en 48 heures, mais pas toujours celle des spores charbonneuses et du bacille de la tuberculose.

Avec la formaline les résultats furent encore moins encourageants. La bouteille rempli de formaline était chauffée à 50°-60°; mais, bien que la cloche fût remplie des vapeurs de ce gaz, aucun effet bactéricide ne put être constaté après 24 heures, bien qu'il y eut quelquefois un retard de développement. Après 48 heures, le retard était encore plus marqué, mais une véritable désinfection ne put être obtenue dans ce laps de temps.

Il semble donc que ces deux gaz ne promettent guère de résultats encourageants. E. F.

Dr L. Mutschler. — **L'eau de l'Aar, à Berne, contribution à la connaissance de l'auto-purification de l'eau des fleuves** (*Forsehungsberichte über Lebensmittel und ihre Beziehungen zur Hygiene*, 1896).

La question qui fait l'objet du travail du Dr Mutschler est une de celles qui intéresse le plus l'hygiène, car les habitants des rives d'un fleuve ont le droit de demander d'être rassurés sur les conséquences que peuvent avoir, pour la pureté de l'eau, la présence d'une ville populeuse sur ses bords, déversant ses égouts dans le fleuve. Les résultats obtenus par le Dr Mutschler sont une nouvelle preuve de la rapidité avec laquelle les eaux courantes savent se débarrasser des impuretés qui y sont importées. Il est juste de dire que l'Aar, rivière à courant très rapide et à fort débit d'eau, se trouve dans des conditions particulièrement favorables.

Pour ne pas entrer dans de trop nombreux détails que le lecteur trouvera dans l'original, nous nous bornerons à transcrire ici les conclusions de l'auteur :

1° L'Aar n'est que peu contaminée par les égouts de la ville de Berne. La contamination se voit surtout à l'augmentation de l'ammoniaque; cependant la teneur en ammoniaque n'est pas plus considérable pendant les autres mois de l'année en aval de Berne qu'en amont de Berne pendant les mois d'hiver (moindre quantité d'eau) dans l'eau plus pure.

Au point de vue bactériologique, on rencontre les mêmes microorganismes en amont et en aval ; en aval, tout au plus 1,2 ou 3 espèces de plus. Le chiffre des bactéries, en aval, est de 5.000, par centimètre cube, de 500 en amont ;

2° La faiblesse de la contamination doit être attribuée à la grande quantité d'eau de l'Aar. Avec le niveau le plus bas observé (0,52), la dilution était encore de 1 à 125. La moyenne de 4 ans donnerait un étiage de 0,79, et qui correspondrait à une dilution de 1 à 300; en été, elle est 1 à 600 et plus ;

3° Les bactéries des eaux des égouts sont détruites par le soleil, et cela, par le beau temps, après 20 kilomètres en 5 heures de temps ;

4° La sédimentation ne joue qu'un rôle insignifiant ;

5° Les diatomées se rencontrent en grand nombre, même là où l'eau est la plus sale et dans la boue des égouts ;

6° Les bulles de gaz que l'on voit, quand le soleil est chaud, se fixer sur les plantes aquatiques, ne sont pas à confondre avec l'oxygène exhalé pendant l'assimilation, mais sont composées d'air atmosphérique ;

7° Une numération des bactéries peut être utile à condition de ne s'arrêter qu'à des différences très sensibles. De petites différences, se chiffrant par quelques centaines ou, quand l'eau est impure, par quelques milliers, sont sans importance ;

8° La purification de l'eau est plus lente en hiver qu'en été ;

9° En raison de la grande dilution, on ne constate pas d'augmentation ou de diminution de chlore, et les quantités de permanganate de potasse employées pour l'analyse restent sensiblement les mêmes ;

10° La destruction de la substance organique doit être attribuée en premier lieu et presque entièrement aux algues; elle n'est cependant pas encore terminée après 40 kilomètres.

De ce qui précède, le Dr Mutschler conclut ce qui suit :

L'auto-purification des fleuves, qui joue un si grand rôle dans la nature, a moins d'importance, au point de vue pratique, attendu que les facteurs principaux de la purification, le soleil et les algues n'exercent leur plus forte action que d'une manière intermittente. Quant à savoir si les bactéries qui détruisent les nitrates sont

influencées par la lumière ou l'obscurité, le froid ou la chaleur, c'est une question que je ne puis résoudre. Quoi qu'il en soit, elles ne viennent qu'en seconde ligne après le soleil, les algues et l'action oxydante de l'oxygène. La question de savoir si les matières fécales et les égouts d'une ville peuvent être dirigés dans un fleuve sans l'empester et provoquer des plaintes des populations habitant en aval du fleuve ne doit être considérée que du point de vue de la proportion qui existe entre la quantité des eaux déversées par les égouts et le débit du fleuve. On ne peut compter sur l'autopurification d'un fleuve que pour les populations situées à 40-50 kilomètres en aval. D'après de Pettenkofer, on peut déverser les eaux d'égout d'une ville dans un fleuve quand leur proportion aux eaux du fleuve est de 1 à 15. De plusieurs côtés ce chiffre a été considéré comme trop bas; mais, même en admettant une proportion de 1 à 20 ou 25, la ville de Berne pourrait devenir encore 5 fois plus grande avant que cette proportion soit atteinte avec les niveaux les plus bas. Aujourd'hui, en hiver, quand il y a le moins d'eau, la dilution est toujours encore de 1 à 300.

Une dilution aussi rapide que possible étant l'idéal à réaliser, il vaut mieux avoir plusieurs bouches d'égout distantes les unes des autres, que d'amener par un seul canal toutes les eaux de vidange sur un seul point.

E. F.

Dr Pietro Alessi. — **De la défense de l'organisme contre la pénétration du virus diphtérique à travers les parois intestinales** (*Annali d'Igiene sperimentale*, VII, p. 7).

Les poisons bactériens, souvent mortels quand ils pénètrent dans la circulation, peuvent quelquefois être absorbés sans danger par la voie stomacale: ainsi le virus tétanique par exemple. L'auteur a soumis à cet égard le virus diphtérique à un ensemble d'expériences dont voici les résultats :

1° La toxine diphtéritique, ingérée par la muqueuse gastro-entérique saine, à doses notables, 10-100 centimètres cubes, est rapidement absorbée et ne produit aucuns désordres appréciables dans l'organisme, à part une diminution de poids passagère ;

2° Pour expliquer l'innocuité des effets de l'ingestion et de l'absorption de la toxine, on ne peut invoquer : ni une action du contenu gastro-intestinal, ni une fonction antitoxique du foie, ni une protection mécanique de la muqueuse intestinale, dans ce sens que le passage à travers celle-ci serait lent et graduel, ni une rétention ou fixation des principes actifs de la toxine de la part de cette muqueuse ;

3° Il semble, au contraire, que la muqueuse intestinale exerce

contre la pénétration des toxines une défense énergique, active, due probablement à l'activité biologique des cellules épithéliales; défense assez rapide pour modifier et rendre inoffensif le liquide toxique, quelque rapide que soit son passage;

4° Cette défense naturelle de la muqueuse contre les toxines cesse quand la muqueuse intestinale a subi l'influence d'agents locaux irritants. Elle persiste, au contraire, quand les fonctions physiologiques générales de l'organisme sont troublées par diverses causes ;

5° L'absorption par la voie intestinale et en une seule fois de doses même considérables de toxine (10-100 centimètres cubes), n'a aucune action immunisante sur l'organisme.

E. F.

Dr Ferdinand Epstein. — **Contribution à la question de la désinfection par l'alcool** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXIV, p. 1).

L'alcool n'a pas la réputation d'un bon désinfectant, surtout depuis que Koch a montré que les spores charbonneuses peuvent rester des mois vivantes dans l'alcool absolu, et que l'on sait que des substances chimiques, qui sont des désinfectants énergiques en solution aqueuse, perdent leur pouvoir bactéricide quand on les incorpore à de l'alcool. D'après les recherches de M. Epstein, il semblerait, toutefois, que ce reproche ne s'adresserait qu'à l'alcool absolu. Moins concentré, à 50° par exemple, il exercerait une action bactéricide sinon très considérable, du moins incontestable, et cette action bactéricide propre à l'alcool dilué renforcerait l'action des substances désinfectantes que l'on y incorpore. Au-dessous de 50 0/0, par contre, ce pouvoir bactéricide de l'alcool diminue de nouveau. Voici, du reste, les conclusions du travail de M. Epstein :

1° L'alcool absolu ne possède pas de propriétés désinfectantes, ce qui est le cas, au contraire, quand il est dilué ;

2° Un alcool à 50 0/0 environ est le meilleur désinfectant parmi les liquides spiritueux; avec une concentration notablement plus élevée ou plus faible le pouvoir désinfectant diminue;

3° Les antiseptiques plus ou moins actifs en solutions aqueuses perdent leurs propriétés désinfectantes quand on les met en dissolution dans de l'alcool concentré (Koch) ; par contre, le sublimé, l'acide phénique, le lysol et le thymol en solution alcoolique à 50 0/0 exercent une action désinfectante plus énergique qu'en solution aqueuse (de même concentration).

E. F.

Dr G. Kefferstein. — **Un nouveau microcoque chromogène isolé d'un lait rouge** (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXI, p. 177).

L'été dernier, l'auteur eut l'occasion d'examiner un lait provenant d'une ferme des environs de Göttingue et devenu rougeâtre. Du lait stérilisé ensemencé avec ce lait devint également rouge; la coloration restait localisée à la surfaco et surtout aux bords; elle se montre 5-6 jours après l'inoculation et atteint son *summum* d'intensité après 2 semaines environ. L'examen bactériologique révéla la présence d'un microcoque qui ne paraît pas encore avoir été décrit. Il croit, en général, lentement, le mieux sur agar à 22 degrés ou à la température de la chambre; dans les cultures par piqûre, on voit, après 2 à 3 jours, le long de celle-ci, une traînée grisâtre, peu caractéristique, tandis qu'à la surface la culture se développe en forme de petite tête de clou de couleur rose à reflets brillants et comme émaillés. La culture se développe bien dans la suite et forme des anneaux concentriques. Les cultures en stries sont plus abondantes; la production de pigment n'a lieu qu'au contact de l'air. A 37 degrés, les cultures ne se développent presque pas. Sur gélatine ce microcoque croit beaucoup plus lentement que sur agar; à 22 degrés, les colonies, un peu roses, ne se voient qu'après 4-6 jours; les colonies sont en forme de têtes de clous et deviennent rouge cerise, tandis que sur agar elles restent roses; elles sont rondes et présentent une granulation régulière. La gélatine n'est pas liquéfiée. Dans le bouillon, il n'y a pas de croissance à 37 degrés; à la température de la chambre il se forme un léger dépôt. Ce microcoque a la forme de staphylocoques; il se colore avec les couleurs usuelles, et aussi d'après la méthode de Gram. Il n'est pas pathogène pour les souris. Il résiste bien à la dessiccation; après 4 jours son développement n'était pas retardé. La ferme où s'était montrée cette maladie du lait en fut facilement débarrassée par des mesures de nettoyage et de désinfection.

E. F.

Diagnostics effectués par le Laboratoire de Bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois de mai 1897

Le nombre total des diagnostics réclamés au Laboratoire de Bactériologie en mai 1897 s'est élevé à 255.

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	1	6	7	9	6	15	22
De 2 à 5 ans......	3	4	7	24	13	37	44
De 5 à 10 ans......	3	7	10	12	20	32	42
De 10 à 15 ans......	1	4	5	7	13	20	25
De 15 à 30 ans......	»	1	1	4	18	22	23
De 30 à 60 ans......	»	»	»	3	6	9	9
De 60 et au dessus...	»	»	»	»	2	2	2
Age et sexe inconnus.	»	»	»	»	»	5	5
Totaux.........	8	22	30	59	78	142	172

Total des diagnostics......................	172
Angines diphtériques......................	30
Angines non diphtériques..................	142
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	17,4 p. 100

Durant le mois de mai de l'année 1897, il a été effectué 172 diagnostics d'angines douteuses, parmi lesquels l'analyse microscopique a décelé 30 fois le bacille de Loëffler, ce qui porte à 17,4 p. 100 la proportion des angines diphtériques observées pendant ce mois. Ce chiffre diffère peu de celui (16,9) qu'on avait obtenu en avril dernier.

Les décès par diphtérie se montrent de plus en plus rares. En mai 1896, on en comptait 62, en mai 1897 on n'en a observé que 26.

Tuberculose

Sur les 83 autres diagnostics, 68 ont été relatifs à des produits soupçonnés tuberculeux, dans lesquels le bacille de Koch a été découvert 28 fois.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Avril* 1897

DESIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 14 du 4 avril au 10 avril.	3.830	840	6°,6	12mm,3	N-W	10km,0	93	107
N° 15 » 11 » » 17 »	15.800	2.330	9 ,8	2 ,7	S-W	»	109	122
N° 16 » 18 » » 24 »	11.000	1.660	10 ,4	9 ,0	N	4 ,7	93	138
N° 17 » 25 » » 1er mai	5.660	2.630	14 ,3	29 ,4	Var.	6 ,3	110	133
N° » » » » » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	9.070	1.870	10°,3	53mm4	Var.	»	405	500
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies symotiques* sont comprises: les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (bronchite aiguë, broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Avril 1897. Bactéries = 5.530 Moisissures = 4.000 Température = 11°,1

Analyse de l'air au parc de Montsouris

Avril 1897. Bactéries = 80 Moisissures = 80 Température = 10°,3

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Avril* 1897

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Avril 1897	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge. .	825	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant.	2.205	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust . . .	1.565	1.825	»	»
» avenue Rapp, 24	900	2.195	»	»
» rue Cler, 4	500	2.195	»	»
» rue de Longchamp, 130	1.700	2.195	»	»
» rue Madame, 40	1.800	2.195	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	28.665	83.300	T = 10°,9	»
» de la Seine à Ivry	18.625	61.730	T = 11 ,5	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	42.500	96.390	»	Haut. = 2m,40
» de la Seine au pont de l'Alma.	77.500	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	180.000	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	51.250	75.310	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, poste de Garennes.	2.500	»	»	»
» boulevard de Charonne, 178	120.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain de la Garenne	500	»	»	»
» d'Asnières	750	1.570	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	7.125.000	18.050.000	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Mai* 1897

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 18 du 2 mai au 8 mai 1897	6.330	1.835	11°,0	3mm,2	W	9km,5	72	110
N° 19 » 9 » » 15 » »	3.700	1.000	9 ,2	2 ,6	N-W	9 ,5	81	114
N° 20 » 16 » » 22 » »	2.665	3.170	16 ,0	11 ,0	N-E	8 ,9	72	105
N° 21 » 23 » » 29 » »	9.200	600	13 ,3	1 ,3	W	10 ,0	75	100
N° » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	5.475	1.650	12°,3	18mm,1	W	9km,4	300	429
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Mai 1897. Bactéries = 4.000 Moisissures = 4.500 Température = 13°,4

Analyse de l'air au parc de Montsouris

Mai 1897. Bactéries = 120 Moisissures = 125 Température = 12°,4

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Mai* 1897

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C. Mai 1897	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C. Année moyenne	TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge .	500	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant.	5.500	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust . . .	300	1.825	»	»
» rue Blanche, 9	300	2.195	»	»
» rue de Meaux, 64.	500	2.195	»	»
» rue Hermel, 2.	700	2.195	»	»
» rue Portalis, 4.	400	2.195	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	13.570	83.300	14°,4	»
» de la Seine à Ivry	8.750	61.730	14 ,9	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	40.000	96.390	»	Haut. = 1m,35
» de la Seine au pont de l'Alma	33.750	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	300.000	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	37.500	75.310	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, impasse Chevallier, 4.	2.500	»	»	»
» impasse Fessart, 6.	22.500	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain des Noyers	100	»	»	»
» d'Asnières.	5.750	1.570	»	»
6° Eaux d'Égout				
Eaux des collecteurs de Paris	5.125.000	18.050.000	»	»

PUBLICATIONS RÉCENTES

Dr W. Delius et Dr W. Kolle. — Untersuchungen über Influenzaimmunität (Recherches sur l'immunité à l'égard de l'influenza) (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXIX, p. 327).

Dr Rud. Abel. — Zur Kenntniss des Pestbacillus (Contribution à la connaissance du bacille de la peste) (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1er section, XXI, p. 497).

Dr D.-B. Roncali. — Mikrobiologische Untersuchungen über einen Tumor des Abdomens (Recherches microbiologiques sur une tumeur de l'abdomen) (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXI, p. 517).

Dr Carlo Magheri. — Sur l'action toxique immunisante et bactéricide du sang d'anguilles (*Annali d'Igiene sperimentale*, VII, p. 191).

Dr Memmo Giovanni. — Contributo alle ricerche eziologiche sulla rabbia (Contribution aux recherches étiologiques sur la rage) (*Annali d'Igiene sperimentale*, VII, p. 191).

A. Celli et F.-S. Santori. — La malaria dei bovini nella campagna romana (La malaria des bovidés dans la campagne romaine) (*Annali d'Igeine sperimentale*, VII, p. 249).

Dr C. Gorini. — Il carbonchio nelt Agro del Basso milanese in rapporto colle concerie (Le charbon dans la campagne du Milanais dans ses rapports avec les tanneries) (*Giornale della R. Società italiana d'Igiene*, 15 mars 1897).

Dr C. Wehmer. — Zur Bakteriologie und Chemie der Häringslake (Contribution à la connaissance de la bactériologie et de la chimie de la saumure de hareng) (*Centralblatt für Bakteriologie*, 2e section, III, p. 209).

Dr W. Henneberg. — Beiträge zur Kenntniss der Essigbakterien (Contribution à la connaissance des bactéries acétifiantes) (*Centralblatt für Bakteriologie*, 2e section, III, p. 223).

Dr W. Bullmann. — Ueber ein Nitrosobakterium mit neuen Wuchsformen (Sur un ferment nitreux à nouvelles formes végétatives) (*Centralblatt für Bakteriologie*, 2e section, III, p. 228).

Charrin et Denittis. — Influence du système nerveux sur les effets obtenus par l'injection des sérums d'animaux vaccinés (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 42).

P. Viala. — Sur le développement du Rot blanc de la Vigne. (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 105).

C. Gerber. — Influence de la température et de l'aliment sur le quotient respiratoire des moisissures (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 162).

E. Rose. — Nouvelles recherches sur les *Amylotrogus* (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 248).

A. Prunet. — Les formes du Parasite du black-rot, de l'automne au printemps (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 250).

E. Gérard. — Sur une lipase végétale extraite du *Penicillium glaucum* (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 370).

J. Tessier et L. Guinard. — Influence de la diète et de l'inanition sur les effets de certaines toxines microbiennes (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 371).

J. Tempère. — Sur les Diatomées contenues dans les phosphates de chaux suessoniens du sud de la Tunisie (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 381).

E. Roze. — Un nouveau type générique de Myxomycètes (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 417).

Croquevielle. — Emploi du sulfate de fer pour la destruction des Cryptogames parasites de la Vigne (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 418).

W. Kuhn. — Sur un nouveau procédé de stérilisation par la chaleur sous pression (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 470).

J. Eriksson. — Vie latente et plasmatique de certaines Urédinées (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 475).

C. Rousselet. — Note sur l'efficacité de la *formaline*, après fixation avec l'acide osmique, pour la conservation des préparations microscopiques (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 587).

E. Roze. — Le *Pseudocommis Vitis* Debray dans les tubercules de pommes de terre (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 704).

V. Babès et C. Levaditi. — Sur la forme actinomycosique du bacille de la tuberculose (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 791).

Mangin. — Sur une maladie des Orchidées causée par le *Glœosporium macropus* Sacc (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 1038).

Charrin. — Pluralité des principes morbifiques engendrés par un microbe pathogène (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 1047).

E. Roze. — Sur le *Pseudocommis Vitis* Debray et sur de nouvelles preuves de l'existence de ce Myxomycète (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 1109).

B. Renault. — Les Bactériacées des Bogheads (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 1315).

G. Nepveu. — Étude sur les lésions infectieuses de la peste (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p. 1318).

G. Lavergne. — Nouvelle bouillie contre le Mildiou et le Black-Rot (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXIV, p, 1542).

L'Éditeur-Gérant: C. NAUD.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

QUE SAVONS-NOUS DE L'ORIGINE DES SACCHAROMYCES?

Par Alb. KLÖCKER et H. SCHIÖNNING

III. — Expériences sur les Aspergillus, les Sterigmatocystis et les Penicillium

A. — Expériences sur l'Aspergillus oryzæ

1° *Expériences d'après Takamine, Juhler et Jörgensen*

Afin de pouvoir porter un jugement décisif sur l'exactitude des communications de Takamine, Juhler et Jörgensen, il est nécessaire de suivre exactement les procédés indiqués par ces trois auteurs; c'est en partant de cette idée que nous avons fait nos premières expériences; mais, comme nous l'avons dit, également, nous avons exécuté de nombreuses séries d'essais en partant de points de vue différents.

Nos matériaux d'expérience consistaient : en une portion de *taka-kôji* de Takamine, par conséquent des mêmes substances sur lesquelles Juhler avait expérimenté, et en une culture d'*Aspergillus oryzæ* envoyée du Japon par le professeur Kellner, que nous fit tenir le Dr Lafar, de Hohenheim. Nous avions, en outre, un *Aspergillus oryzæ*, possèdé depuis environ dix ans par le Laboratoire de Carlsberg; enfin, mais beaucoup plus tard, Juhler mit ses cultures à la disposition du Laboratoire. Dans tous les cas, nous avons exécuté nos expériences sur un *Aspergillus oryzæ* typique.

D'après la communication de JUHLER, mentionnée dans le paragraphe précédent. cet auteur croyait, en suivant les indications de TAKAMINE, faire produire des cellules de levure à l'*Aspergillus oryzæ* en cultivant les conidies de cette moisissure sur un milieu contenant une forte proportion d'amidon, ce qui permettait aux conidies semées de produire un mycelium et de nouvelles conidies. Alors, quand l'amidon était saccharifié par l'action diastasique du mycélium et qu'il s'était liquéfié, les conidies qui se formaient dans le liquide et qui, par conséquent, restaient soustraites à l'abri de l'air, changeaient successivement d'aspect et finisssaient par affecter une forme allongée et par devenir transparentes et lisses, tandis que primitivement leur surface était couverte d'aspérités.

En outre, JUHLER pensait qu'elles se multipliaient alors par bourgeonnement et donnaient des endospores par cultures sur blocs de plâtre. Finalement, selon cet auteur, elles se transformaient en Saccharomyces avec toutes les propriétés typiques de ces derniers. JÖRGENSEN, nous l'avons également déjà dit, confirma l'exactitude de la découverte de JUHLER, en pensant avoir constaté par l'observation directe en chambre humide la relation génétique entre les conidies et les cellules de levure. D'après ce qui précède, on serait tenté de croire que le point décisif, c'est-à-dire la transformation des conidies en cellules de levure, pouvait se constater dans la chambre humide et que, par conséquent, la preuve qui faisait défaut à JUHLER était effectivement obtenue ici. Mais, en examinant de plus près la question, on ne tarde pas à s'apercevoir que les conclusions de JÖRGENSEN tiennent à des combinaisons arbitraires et que les figures qu'il produit comme les descriptions qu'il en donne montrent qu'il n'a pas suivi directement l'évolution qu'il suppose.

D'après sa seconde communication, contenant les détails relatifs à cette recherche, il ressort que les conidies semées en chambre humide dans une goutte de riz liquéfié, germèrent comme à l'ordinaire, donnèrent un mycélium, puis fructifièrent. Les conidies développées dans l'air présentaient l'aspect ordinaire, tandis que « celles qui étaient plongées dans le liquide offraient successive-

ment toutes les phases de transition jusqu'à devenir des cellules ellipsoïdes et claires ». Voilà donc tout ce qu'a vu Jörgensen, mais il n'est pas question du point essentiel, de cette preuve qui fait défaut, savoir du bourgeonnement dans la chambre humide. Dans sa troisième communication, cet auteur parle encore de l'*Aspergillus oryzæ* et de sa faculté supposée de donner des cellules de levure. La partie nouvelle de ce travail se réduit à l'exposition de quelques figures, dont l'une représente des cellules de levure à endospores et dont l'autre donne une image de ce qu'on voit dans la chambre humide. On y voit deux groupes de figures montrant des conidies claires et colorées et un troisième groupe qui doit représenter quelques conidies en bourgeonnement plongées dans le liquide; mais, dans le texte expliquant cette figure, il a été ajouté, entre parenthèses, que ce *bourgeonnement* a été observé dans le matras, par conséquent *hors de la chambre humide*.

En semant dans du riz liquéfié des conidies d'*Aspergillus oryzæ*, dans la chambre humide de Böttcher, nous n'avons jamais constaté de développement de cellules de levures ni aucune fermentation, et dans des matras ces phénomènes ne se sont pas présentés davantage, même après un assez long séjour. Nous nous servions, dans ces expériences, des diverses végétations mentionnées précédemment, semées sur du riz d'une plus ou moins grande consistance ; en outre, tantôt les matras étaient pleins, tantôt ils ne contenaient qu'une faible quantité de riz, et, enfin, nous ne nous sommes pas seulement contentés d'opérer avec de petits vases à culture, mais nous avons également employé de grands récipients d'une capacité atteignant jusqu'à 3 litres et demi ; car il était loisible de supposer que dans ces cultures en grande masse il pouvait se développer des actions capables de faciliter chez l'*Aspergillus* la production de cellules de levure. En un mot, nous avons varié ces expériences de bien des manières et nous en avons exécuté des centaines ; dans une autre série d'essais, nous nous sommes conformés aux indications de Takamine, en employant du son de froment comme milieu nutritif. *Dans aucun cas il n'y a pas eu formation de cellules de levure quand on a opéré avec des cultures pures.*

Comme TAKAMINE et JUHLER insistent, d'une part, pour que les conidies soient plongées dans le liquide nutritif; d'autre part, pour que l'*Aspergillus* soit appelé à déployer une grande activité diastasique capable de favoriser le développement des cellules de levure, nous avons pratiqué de nombreuses expériences visant à affaiblir le développement des conidies et à faciliter la formation du mycélium, par la raison que ce dernier renferme la diastase. A cet effet, nous avons semé soit des conidies desséchées, soit des conidies chauffées préalablement à une température élevée ; quelquefois nous avons ajouté aux cultures de la diastase retirée de l'*Aspergillus* par TAKAMINE ; dans d'autres cas, nous avons coiffé les matras avec de la cire à cacheter de façon à produire intérieurement des vases une pression d'acide carbonique ; enfin, ces expériences ont été variées de bien d'autres manières. *Dans tous ces cas nous avons obtenu une végétation normale d'Aspergillus et pas de cellules de levure.*

Expériences pratiquées à d'autres points de vue

Dans une longue série d'essais nous avons employé des *stimulants* artificiels pour amener éventuellement la transformation des conidies de l'*Aspergillus*, en cellules de levures. Nous venons de mentionner nos expériences avec des conidies chauffées vers 60 degrés ou desséchées ; dans les deux cas le résultat fut négatif. C'est pour ce motif que nous essayâmes l'emploi de divers *stimulants chimiques*, tels que l'*acide carbonique*, l'*acide fluorhydrique*, le *fluorure d'ammonium* et l'*alcool*. L'action de la lumière fut de même employée. Enfin, nous avons fait quelques essais de *vie symbiotique* en supposant qu'une symbiose était peut-être nécessaire pour que le phénomène recherché pût se produire. Comme dans plusieurs expériences, où l'*Aspergillus* était semé dans une grande quantité de son de froment, nous observions la formation de cellules de levures et en même temps une forte production de bactéries, nous avons éliminé ces bactéries de ces cultures, et puis semé une culture de bactéries déterminée conjointe-

ment à une culture pure d'*Aspergillus;* nous avons de même employé dans ce but les bactéries de l'acide lactique, et enfin nous avons semé à cette même fin de la levure basse n° 1 de Calsberg avec l'*Aspergillus.* Le motif pour lequel cette dernière espèce de la levure a été choisie, c'est qu'elle donne très peu de spores, quand elle en donne, tandis que la levure que *Juhler* prétend provenir de l'*Aspergillus* en fournit beaucoup. Enfin, dans bon nombre d'expériences, il a été fait usage de milieux nutritifs variés soit de gélatine, soit de liquides nourriciers, etc., tandis que les cultures étaient pratiquées à des degrés de chaleur variant de la température ordinaire à 40 degrés.

Dans toutes les expériences qui viennent d'être énumérées on n'a jamais observé de formation de cellules de levure, même quand les cultures sont restées longtemps abandonnées à elles-mêmes, quelquefois pendant une année entière.

3° *Expériences imitées de la fabrication du saké*

La première phase de la fabrication du saké japonais consiste dans la préparation du *kôji.* A cet effet, on sème des conidies d'*Aspergillus oryzæ* sur du riz gonflé par la vapeur, placé sur des nattes dans des caves, à une température de 25° C. On pétrit exactement la masse pendant quelque temps, et les grains de riz ne tardent pas à s'imprégner de mycélium. On additionne ensuite le *kôji* ainsi préparé de riz gonflé à la vapeur et d'eau, on remue de temps en temps et on laisse séjourner le tout à une température de 10° C. La diastase sécrétée par l'Aspergillus saccharifie et liquéfie le riz et, au bout de trois jours, la masse commence à fermenter; on y rencontre alors des cellules de levure.

Afin de conserver à l'état de pureté la culture de l'Aspergillus, nous employâmes dans nos expériences des matras dans la préparation du *kôji;* mais quand nous transportâmes le *kôji* dans le mélange mentionné de riz et d'eau, nous ne pûmes constater aucune fermentation ni aucune formation de cellules de levure; le résultat resta le même

en plaçant la masse dans du moût. Comme, dans la fabrication du saké au Japon, il y a toujours des bactéries donnant lieu à la formation de produits acides, nous ajoutâmes dans certains cas de l'acide ; mais le résultat n'en fut pas moins négatif.

Comme on devait s'y attendre, lorsque, suivant les indications de TAKAMINE nous prîmes pour semence sur du son de froment stérilisé ce *taka-kôji*, substance qui, à l'examen microscopique, paraissait très impure, nous obtînmes, non seulement un développement de Saccharomyces, mais également et simultanément d'une foule d'autres organismes différant de l'Aspergillus. D'autre part, en employant une culture pure d'Aspergillus, isolée du *taka-kôji* mentionné, il n'y eut dans aucun cas formation de Saccharomyces.

Dans deux des expériences qui précèdent, nous avons observé une *formation de scléroties* chez l'*Aspergillus oryzæ* dans de vieilles cultures de moût. Dans l'un de ces cas, la culture provenait d'une végétation sur du riz additionnée d'acide fluorhydrique, et, dans l'autre, d'une végétation dans l'eau ayant séjourné pendant une année dans l'embrasure d'une fenêtre regardant l'est et exposée à l'action directe de la lumière. Mais, quant aux périthécies, nous n'en avons jamais vu.

Expériences exécutées d'après les indications de Sorel.

SOREL, on se le rappelle, a prétendu qu'en semant l'*Aspergillus oryzæ* dans du moût de malt additionné d'acide fluorhydrique ou d'alcool, on obtient un développement de cellules de levure. Nous avons imité exactement ses expériences et employé dans ce but des cultures pures extraites des propres matériaux qu'il a eu l'obligeance de nous envoyer ; néanmoins, dans *aucun cas nous n'avons pu observer la production de cellules de levure*. Il faut donc que dans ses essais SOREL ait employé des matériaux très impurs et qu'il n'ait pas tenu suffisamment compte des exigences requises aujourd'hui par les méthodes bactériologiques irréprochables.

B. — Expériences effectuées sur diverses espèces d'Aspergillus de Sterigmatocystis et de Penicillium

D'après Jörgensen, le prétendu développement des Saccharomyces de l'*Aspergillus oryzæ* s'appliquerait à d'autres espèces d'Aspergillus et de Sterigmatocystis, susceptibles de transformer, également, l'amidon en sucre et ultérieurement de fournir des conidies pouvant se métamorphoser en Saccharomyces capables de déterminer la fermentation alcoolique. C'est pour ce motif que nous avons fait bon nombre d'expériences sur les espèces suivantes : l'*Aspergillus flavus, l'Aspergillus fumigatus* et plusieurs types voisins, le *Sterigmatocystis niger* et plusieurs espèces de Penicillium. Tous ces types examinés par nous possédaient un ferment diastasique; mais aucun ne put donner des cellules de levure. En opposition aux espèces précédentes, dans nos essais avec l'*Aspergillus glaucus* et l'*Aspergillus repens* nous n'arrivâmes pas à saccharifier le riz; du reste, ces espèces croissaient très mal dans ce milieu où elles ne donnèrent pas non plus de cellules de levures.

IV. — Expériences sur le Dematium, le Cladosporium, etc.

Dans ses publications, Jörgensen recommande surtout dans les expériences de culture l'emploi d'un *milieu nutritif naturel*, pour amener les champignons appartenant aux Dematium, aux Cladosporium, etc., à produire des Saccharomyces. Toutefois cet auteur ne satisfait pas lui-même à cette exigence, car il emploie des *raisins stérilisés ;* autrement dit un milieu artificiel. Dans sa seconde communication, Jörgensen dit avoir contrôlé ses résultats au moyen d'expériences faites avec des cultures absolument pures ; mais sa troisième communication, ne mentionne plus l'emploi de semblables cultures, et on y voit, plus clairement que dans sa seconde communication qu'il base ses conclusions sur les observations et les associations

que lui a fourni l'examen microscopique direct des cultures impures existant dans la nature. Jörgensen a cru tout d'abord posséder une méthode d'investigation, mais il a négligé d'en assurer le point de départ. En somme, sa troisième communication n'est que la reproduction de la seconde ; à part quelques figures destinées à illustrer ses prétendues découvertes, elles n'offrent rien d'essentiellement nouveau. Parmi ces dessins, la figure 7 donne l'image de prétendues *spores de moisissures ;* des goutelettes de graisse dans les cellules de Dematium peuvent offrir une image tout à fait identique. Les figures 8 et 9 doivent représenter la germination de ces *spores de moisissures ;* mais elles sont loin de fournir les renseignements qu'elles promettent. Ce qu'on apprend surtout dans ce dernier mémoire, c'est que les cellules de Saccharomyces nées dans les cultures de cet auteur ne sauraient reproduire les moisissures.

Quant à la question principale, plusieurs points dénotent le fait d'une méprise relative aux vrais Saccharomyces. D'après les recherches de Hansen, beaucoup de ces champignons donnent des végétations à forme mycélienne, tant dans les voiles dont ils recouvrent les liquides nutritifs que, notamment, sur les milieux nourriciers solides ; les *Saccharomyces Ludwigii*, *Marxianus* et *membranæfaciens* jouissent principalement de cette propriété. De notre côté, nous avons trouvé sur des fruits une espèce qui donne une quantité abondante de spores dans ses longues chaînes cellulaires comparables au mycélium. A tout examiner, de pareils types de Saccharomyces capables de fournir un mycélium et de donner des spores dans les cellules allongées de ce dernier, ne semblent pas être rares. Cependant ces types qui prennent, dans certaines conditions de culture, la forme des champignons ressemblants au Dematium, ne sont pas autre chose que des Saccharomyces, à en juger par les recherches faites jusqu'ici. C'est ce que démontrent les recherches récentes de Will relatives à la formation des voiles chez les espèces de levures de bière.

A. — Expériences sur des cultures impures.

Nos échantillons de raisin provenaient de Klosterneuburg, près de Vienne (D[r] SEIFERT), de Pérouse en Italie (D[r] FORTI) et de Ludwigshafen dans le Palatinat (D[r] ECKENROTH). Nous profitons de cette occasion pour remercier publiquement nos correspondants de leur aimable obligeance.

En examinant les raisins aussitôt après les avoir reçus, nous constatâmes à leur surface la grande fréquence du Dematium et du Cladosporium. Dans aucun de ces champignons on ne put apercevoir d'endospores. Alors nous plaçâmes de diverses manières environ 250 raisins sur des cloches tenues humides; mais ni sur les raisins, ni au point d'insertion du pédoncule, lieu qui, selon JÖRGENSEN, est le siège particulier de la formation des endospores, ni sur le pédoncule, *nous ne trouvâmes jamais de champignons pouvant donner des endospores*. Il est regrettable que JÖRGENSEN n'ait pas jugé utile de conserver ses matériaux d'expériences. Nous fîmes de semblables recherches sur des cerises, des groseilles à maquereau et des prunes, mais *toutes donnèrent également un résultat négatif*.

B. — Expériences sur des cultures pures.

JÖRGENSEN s'étant servi dans certains cas de cultures pures, ainsi qu'il l'indique dans ses communications, nous préparâmes un certain nombre de cultures pures provenant du Dematium, du Cladosporium, et de végétations ressemblant au Dematium que nous avions trouvés sur des fruits doux et juteux. Ces cultures pures furent obtenues au moyen des plaques de gélatine chargée avec les jus de fruits indiqués. Dans nos premiers essais, ces cultures furent effectuées sur des milieux nutritifs stérilisés par la chaleur. Les résultats furent négatifs, mais JÖRGENSEN insistant tout particulièrement, comme nous venons de le dire sur l'emploi d'un milieu naturel, nous nous en procurâmes un par le procédé suivant : En examinant dans des serres quelques-uns des raisins qui y mûrissaient, tandis

qu'ils étaient encore verts, nous y remarquâmes très peu de champignons, en tout cas il ne fut point aperçu de Saccharomyces. Puis certaines de ces grappes furent emprisonnées de façon qu'elles fussent entourées d'un gobelet de verre stérilisé dont l'ouverture fut occluse avec du coton de même stérilisé, un fil de cuivre permit de maintenir le gobelet dans une position convenable (voir *fig.* 1). De cette manière, les raisins enfermés restaient donc pré-



Fig. 1.

servés de l'infection du dehors et pouvaient mûrir à l'aise. Arrivés à maturation, ils fournirent le milieu nutritif de nos cultures pures.

Nous avons pu, également, nous procurer un milieu nutritif naturel exempt de Saccharomyces, en prenant des raisins mûrs ou verts qu'on rinçait une dizaine de fois dans

de l'eau stérile. Après ce traitement, aucun des raisins ne présenta de cellules de Saccharomyces. Ensuite nous semâmes nos cultures pures de Dematium, de Cladosporium, etc., sur ce milieu nutritif exempt de Saccharomyces et plus particulièrement sur la partie des raisins immédiatement contiguë au pédoncule, point où, selon JÖRGENSEN, les prétendues spores doivent se développer le plus aisément. Mais nous arrivâmes toujours à un résultat négatif, même en blessant la surface des raisins de façon à en faire sortir le jus, ou en plaçant la culture tout entière dans du moût de raisin avant de clore l'expérience.

C. — Expériences d'isolement dans la nature libre et dans les serres.

Nous avons, plus haut, mentionné brièvement les expériences d'isolement faites par PASTEUR et CHAMBERLAND en plein air et sur des raisins. Ces expériences, on se le rappelle, consistent à emprisonner des raisins verts chargés de Dematium jusqu'à l'époque de leur maturité et à les examiner ensuite en vue d'y découvrir des Saccharomyètes. Dans ces conditions, on a toujours constaté que les raisins ainsi enfermés montrent du Dematium exempt de Saccharomyces, tandis que ces deux types de champignons se trouvent à la fois sur les raisins restés exposés au contact de l'atmosphère libre. Ce résultat ne permit pas à PASTEUR de professer l'opinion qu'il avait tout d'abord cru vraisemblable à savoir : que le Dematium pouvait être le champignon primitif d'où naissait la levure. Nous avons de notre côté reproduit ces expériences d'isolement avec l'aide d'appareils perfectionnés dans le but d'isoler dans la nature des fruits doux et juteux de façon qu'ils pussent croître dans les conditions habituelles, mais sans que les organismes venus du dehors pussent les atteindre. A cet effet, nous avons fait construire une caisse dont le dessin est représenté par la figure 2.

Cette caisse, faite de carreaux de verre assemblés à l'aide de bordures de zinc, mesurait $0^{m},47$ de hauteur, $0^{m},17$ de largeur sur $0^{m},31$ de profondeur. Elle possédait une

porte à coulisse située dans le fond et, latéralement, toutes les faces étaient munies de conduits aérifères dont les ouvertures internes étaient bouchées avec du coton ordinaire et les ouvertures extérieures avec de la ouate salicylée.

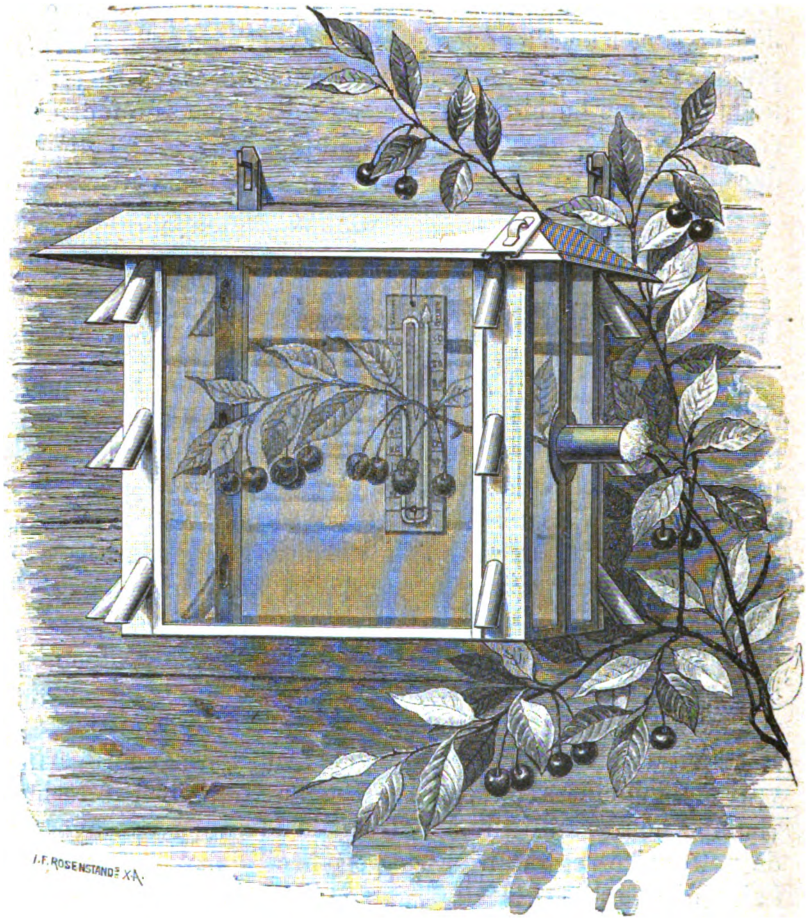


Fig. 2.

Là ou deux surfaces étaient adjacentes, l'une dépassait toujours l'autre, et toutes les fentes, ou autres solutions de continuité étaient calfeutrées de la même façon par du coton ordinaire d'abord, ensuite par du coton salicylé, puis enfin par de la cire ou un autre lut.

Dans une semblable caisse, on peut emprisonner un

rameau tout entier avec ses fruits, et ces derniers peuvent s'y développer à l'aise. Les agents qui, durant la croissance de la plante, doivent être dispensés avec mesure, sont l'air, la lumière, la température et l'humidité.

Le *renouvellement de l'air* s'opère en se filtrant par les tubulures aérifères. Quand on emploie le verre pour fabriquer la caisse, la *lumière* obtenue est toujours suffisante; cependant, si cette serre minuscule est exposée au midi, il convient de badigeonner au moins quelques-uns de ses côtés. La *température* est identique à l'extérieur comme à l'intérieur de cette caisse. La différence entre les deux températures moyennes, déterminée d'après 79 observations, ne s'est pas montrée supérieure à un demi-degré. Ce que nous venons de dire des conditions de température et d'aération s'applique aussi aux *conditions d'humidité*. Si les tubulures aérifères ne sont pas bouchées par des tampons de coton trop serrés, il y a passage suffisant pour la vapeur d'eau et, en somme, c'est, à peine si on trouve une différence appréciable entre les conditions extérieures et intérieures. Il va sans dire qu'on doit tenir la caisse parfaitement étanche, de manière à la préserver des infiltrations pluviales; c'est seulement pour les cerisiers que nous pûmes employer ces petites serres. Pour isoler les fruits des pruniers, nous dûmes employer les matras et des bocaux soutenus par des fils métalliques; le fond en haut pour empêcher la pénétration de la pluie (voir *fig.* 3). L'embouchure des bocaux était fermée à l'aide de deux morceaux de liège stérilisé, munie d'échancrures convenables pour laisser passer le rameau et l'air. Toutes ces échancrures furent bouchées à leurs parties internes avec du coton stérilisé et leurs parties externes avec de la ouate salicylée. Les vases, exposés au fort soleil du midi, furent badigeonnés sur leurs parties tournées vers le sud. Pour les raisins nous employâmes, comme nous l'avons dit précédemment, des gobelets fermés au moyen du coton stérilisé (voir *fig.* 1). Enfin, sans exception, tous les fruits furent emprisonnés, tandis qu'il étaient encore verts.

L'idée qui nous a inspiré ces expériences était en somme la même que celle qui avait autrefois guidé Pasteur et Chamberland : si les types de *Dematium*, de *Cladospo-*

rium, etc., vivant sur les fruits, peuvent donner naissance à des Saccharomyces, ce fait doit pouvoir se produire aussi bien sur des fruits enfermés que sur ceux qui croissent librement dans la nature quand ils y sont naturellement présents. Si l'on trouve seulement des Saccharomyces sur les fruits exposés à l'air libre, et non sur les fruits enfermés, cela démontre évidemment que ces Saccharomyces

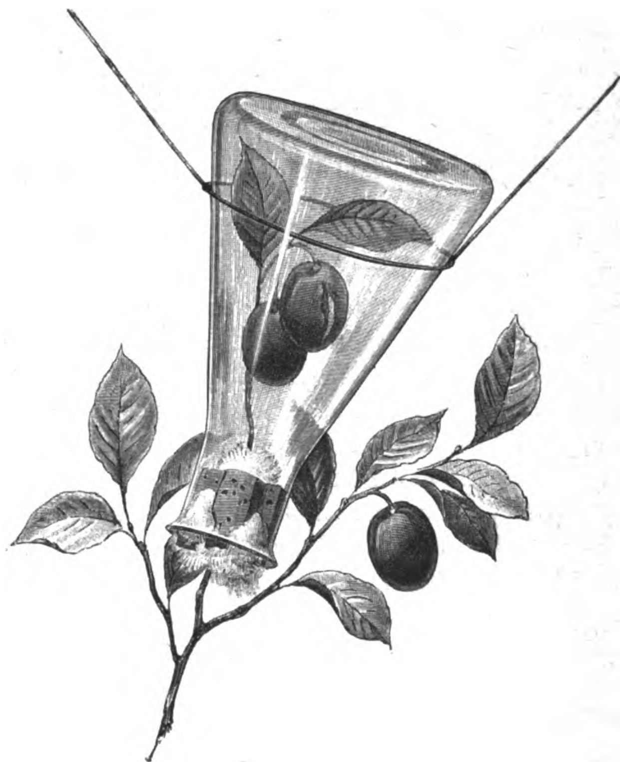


Fig. 3.

doivent y être venus par une autre voie que sous l'influence de la vie poursuivie des *Dematium*, des *Cladosporium*, déposés sur la surface des raisins.

Nos essais d'isolement de cerises furent faits sur deux arbres appartenant à deux jardins différents, voici le résultat de ces essais : 17 cerises mûries dans les caisses ne présentèrent pas un seul Saccharomyces, tandis que 30 cerises mûries en plein air sur les mêmes arbres,

offrirent 4 fois des Saccharomyces, soit par conséquent 13,5 fois sur 100. Sur toutes les cerises tant libres qu'enfermées on distingua des cellules de *Dematium*, de *Cladosporium*, etc.

Pour les prunes, les expériences étaient pratiquées sur 5 arbres différents placés dans deux jardins distincts. Les résultats obtenus furent les suivants : sur 19 prunes, soustraites aux poussières de l'air, aucune ne présenta de Saccharomyces ; sur 20 prunes non enfermées croissant sur les mêmes arbres, 10 d'entre elles, c'est-à-dire 50 p. 100, présentèrent des Saccharomyces. Toutes, ou à peu près, tant libres qu'enfermées montrèrent des cellules de *Dematium*, de *Cladosporium*, etc.

Enfin, quant aux raisins, il fallut, comme nous l'avons dit, exécuter nos expériences dans des serres et dans deux d'entre elles nous emprisonnâmes 4 grappes (voir *fig.* 1). Comme ces serres étaient fréquemment ouvertes, le vent et la poussière y avaient libre accès et un isolement particulier se montra encore ici nécessaire. Comme résultat, il fut constaté que pas un grain de raisin ainsi enfermé ne donnait de Saccharomyces, tandis qu'il s'en trouva un, sur un raisin laissé à l'air libre dans une serre. Cette observation montre que les serres ordinaires elles-mêmes procurent un bon isolement. Pour ainsi dire tous les raisins tant enfermés que laissés à l'air des serres présentèrent des *Dematium*, des *Cladosporium*, etc.

Dans aucun cas nous n'avons donc trouvé de Saccharomyces sur un fruit enfermé, quoique les *Dematium*, les *Cladosporium*, etc., y pullulassent, tandis que les Saccharomyces étaient présents sur les fruits non emprisonnés. Pourtant les conditions favorables au développement des Saccharomyces étaient particulièrement réalisées chez les fruits enfermés ; car, tandis que les fruits croissant à l'air libre étaient depuis longtemps dévorés par les oiseaux et les insectes, les fruits emprisonnés se conservaient parfaitement, se gorgeaient de jus, et finissaient par se crevasser sous l'influence de la maturité, condition qui, d'après Jorgensen, favorise tout particulièrement la formation des Saccharomycètes ; de plus, le milieu nutritif était aussi naturel qu'il est possible de le souhaiter. Si donc les moississures indi-

quées avaient été réellement capables de donner naissance à des Saccharomyces, les conditions réclamées n'auraient pu être plus favorables. Par la même occasion, il nous fut également facile de constater que les Saccharomyces ne peuvent naître des *Penicillium*, des *Aspergillus* et des *Sterigmatocystis*, ces sortes de champignons se trouvèrent de même fréquemment sur les fruits enfermés comme sur ceux qui ne l'étaient pas.

V. — Expériences sur les Saccharomyces

Comme on se le rappelle, les auteurs qui pensaient avoir découvert les types primitifs des Saccharomyces avaient, dans la plupart des cas, pris pour leur point de départ les essais de culture de ces prétendus types primitifs. Juhler et Jörgensen ont agi de même; cependant nous devons faire ressortir que ces deux auteurs ont toujours pensé que les cellules de Saccharomyces resteraient toujours des Saccharomyces n'importe qu'elle fût la méthode de culture adoptée. Sorel avait, au contraire, supposé qu'on pouvait, à l'aide des cellules des Saccharomyces, remonter par voie de culture à l'*Aspergillus oryzæ*, on a vu plus haut qu'il n'en est pas ainsi.

Comme dans tous nos essais de culture des moisissures indiquées comme types primitifs, le résultat obtenu fut toujours négatif, nous fîmes une série d'expériences en suivant une voie inverse, là comme précédemment le but recherché ne put être atteint. Nous utilisâmes pour nos expériences soit la levure que nous avait envoyé Takamine et qu'il croyait provenir de l'*Aspergillus oryzæ*, soit celle de Sorel qui avait, pensait-il, la même origine et, enfin, diverses espèces types de Saccharomyces, entre autres : les *Saccharomyces cerevisiæ I*, *Saccharomyces Pastorianus I*, *Saccharomyces membranæfacies*, *Saccharomyces anomalus*, *Saccharomyces Ludwigii* et quatre différentes espèces de levure de vin, ainsi que le *Saccharomyces apiculatus*, nous désignons cette dernière espèce par son ancienne dénomination, car, étant dépourvue de la

faculté de donner des spores endogènes, elle doit être rayée du genre Saccharomyces. Quant à la levure envoyée par Sorel, elle fut cultivée d'après les indications données, mais en aucun cas elle ne put fournir l'*Aspergillus oryzæ;* dans les autres expériences les semences employées consistèrent tant en cellules sporifères que végétatives. Les milieux nutritifs choisis furent de genres divers ; des raisins stérilisés soit à chaud, soit par lavage avec de l'alcool ensuite enflammé ; de la gélatine additionnée de peaux de raisins, des cerises, des pommes, de l'orge entier ou écrasé, et enfin, du riz, intact ou broyé, avec son écorce ou décortiqué. Les cultures furent maintenues dans un état d'humidité convenable. Nous ne nous contentâmes pas de pratiquer une seule culture sur les milieux qui viennent d'être énumérés, nous les continuâmes pendant plusieurs générations, de sorte que ces cultures s'étendirent pendant 2 à 3 mois et même une année. De plus, nous opérâmes à des températures variées. *Le résultat principal fut que, dans aucun cas, nous ne parvînmes à transformer un Saccharomyces en un autre genre de Champignon.*

Les recherches de Hansen tendent toutes à prouver que les Saccharomycètes types ont une circulation analogue à celle qu'il a signalée, en 1880, chez le *Saccharomyces apiculatus* (1). A l'époque où les fruits doux et juteux sont parvenus à leur maturité, ils constituent le lieu d'élection de ces champignons, tandis qu'ils hivernent dans la terre pendant la plus grande partie de l'année et c'est de là qu'ils passent dans les poussières atmosphériques. Dans la saison où les groseilles à maquereau, les cerises, les prunes, les raisins, etc., sont mûrs, les Saccharomycètes se trouvent non seulement à la surface des fruits, mais aussi dans le jus qui en sort et où ils se multiplient en abondance. C'est

---

(1) Hansen publia d'abord dans la *Hedwigia* (1880) ses recherches sur la circulation de ce champignon dans la nature. Son mémoire complet a pour titre : Sur le *Saccharomyces apiculatus* et sa circulation dans la nature (*Compte rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg*, 1881, I, livraison 3, p. 159). Pour les recherches de Hansen sur la circulation des Saccharomycètes typiques voir surtout ses : Untersuchungen aus der Praxis der Gahrungsindustrie 2. livr. München 1892, ainsi que l'édition anglaise de cet ouvrage, Londres 1896. Les recherches les plus récentes de cet auteur sur le même sujet se trouvent dans son mémoires intitulé : On the variation of yeast-cells (*Annals of Botany*, 1895).

notamment à la surface des fruits qui éclatent facilement et dont les jus sont très sucrés qu'on les trouve en grande quantité. C'est également ce que nos recherches nous permirent de constater : en plein air on trouva, en moyenne, des Saccharomyces, une fois sur deux, sur les pruniers ordinaires, tandis que les prunes Reines-Claude qui, comme on sait, sont particulièrement douces, éclatent ou sont lacérées aisément, parce qu'elles sont très recherchées par les insectes, il n'en fut pas trouvé une qui ne fût habitée par des Saccharomycètes.

Depuis 1880, Hansen a fait de nombreuses expériences sur la vie des diverses espèces de levure dans la terre (voir surtout son mémoire intitulé: *On the variation of yeast-cells*). Ces expériences ont établi que ces cellules peuvent dans ces conditions se maintenir vivantes pendant trois années. Si l'on prend des échantillons de terre situés sous des arbres et des buissons fruitiers et qu'on mette ces échantillons dans un liquide fermentescible, on y trouve des Saccharomycètes. On ne saurait donc nier que les résultats qui s'appliquent au *Saccharomyces apiculatus* ne s'appliquent pas de même aux Saccharomycètes.

Si donc, il se produisait dans la nature une transformation de moisissures en Saccharomyces et *vice versa*, ce serait, par conséquent, dans une phase quelconque de la circulation ; nous avons mentionné précédemment nos essais de cultures sur les fruits et le blé, et nous n'avons constaté aucune transformation de ce genre. Les autres milieux où elle pourrait être supposée avoir lieu, sont le sous-sol, le canal intestinal des animaux et les substances excrémentitielles. L'hypothèse qu'une pareille transformation se produirait dans la terre est contredite par les expériences, déjà citées de Hansen, où diverses espèces de levures, semées dans de la terre stérilisée contenue dans des tubes d'argile, séjournaient pendant longtemps en pleine terre. En les recherchant après ce laps de temps, il les retrouvait inaltérées avec toutes leurs propriétés. La possibilité de voir les Saccharomycètes se transformer en traversant le canal intestinal, ou de subir une simple métamorphose ne paraissait pas improbable, car on sait que quelques faits établissent une chose semblable pour d'autres

champignons. Les animaux sur lesquels ces recherches doivent porter, quand il s'agit de Saccharomycètes, sont les oiseaux et les insectes (1), car HANSEN et BREFELD ont établi par leurs travaux qu'il existe peu de chance pour que les Saccharomyces revêtent des formes nouvelles en passant par l'intestin des mammifères ou en séjournant pendant quelque temps dans les excréments de ces animaux. Pour inaugurer quelques recherches dans ce sens, nous pratiquâmes plusieurs expériences sur les mouches, les abeilles, les guêpes, les étourneaux et les moineaux, en faisant avaler à ces divers animaux une sorte de levure de vin qui n'avait jamais été cultivée dans d'autres milieux que dans le moût de raisin et la gélatine de moût de raisin. Ici encore nous n'observâmes aucune transformation morphologique de la levure.

Toutes ces expériences parlent nettement et avec force contre l'opinion qui considère les Saccharomyces comme pouvant être dans la nature l'objet d'une transformation. Il en est de ces expériences comme de toutes celles que nous avons effectuées : *chaque fait bien observé parle en faveur de l'indépendance des Saccharomycètes*.

VI. — RÉSUMÉ

L'exposé bibliographique qui précède a montré que DE BARY et REESS ont respectivement écrit jusqu'en 1866 et 1870 l'historique de la question qui fait l'objet de ce présent travail. Ces deux auteurs sont les avocats de l'opinion qui considère les Saccharomycètes comme des champignons indépendants.

A partir de 1870, PASTEUR et BREFELD contredisent cette manière de voir, et, après l'année 1884, année où DE BARY se prononce pour la dernière fois sur cette question, HANSEN aborde le même sujet. Ses antagonistes

(1) WORTMANN pense que ce sont principalement les guêpes qui, dans les vignobles, propagent la levure en la transportant de raisin à raisin, de cep à cep, de vigne à vigne.

sont dans cette période non seulement Brefeld et ses disciples, mais surtout Ludwig et Mœller.

Les vues exprimées à cet égard par Pasteur et Brefeld manquent de netteté: Pasteur s'appuie surtout sur des considérations générales et des observations microscopiques concernant les différentes végétations de champignons qui croissent sur les raisins, et émet en divers points de ses écrits des opinions complètement contradictoires; Brefeld appuie sa manière de voir sur des considérations basées sur la morphologie générale des champignons. Ni l'un ni l'autre de ces savants ne nous ont appris à trouver les prétendus types primitifs des Saccharomyces, et le résultat de leurs observations aboutit à des hypothèses. C'est à elles que s'attaqua Hansen qui eut le mérite de placer au premier plan l'expérience et d'exposer avec clarté le but qu'elle devait atteindre. Par là, il incombait à Hansen la tâche, souvent ingrate, de repousser les assertions hasardées et d'exiger que l'on distinguât nettement, ce qui n'avait pas toujours été fait, entre les vérités démontrées et les pures suppositions. S'il insiste sur l'indépendance des Saccharomycètes, c'est par la raison qu'en pesant bien les assertions contradictoires émises sur ce sujet, il reconnaît leur peu d'exactitude. Loin de rester dans le domaine de la dialectique, il fait lui-même de nombreuses expériences pour découvrir les types primitifs éventuels des *Saccharomycètes* et il fait sur ce terrain un pas de plus que ses devanciers: car il parvient à faire produire des myczéliums aux cellules des saccharomyces, fait, à la vérité, qui *peut* nous amener à penser à l'existence de types primitifs en dehors du cercle propre des cellules de levure, mais sans qu'il y ait nécessité. Depuis, la question n'a pas avancé plus loin. La chance de trouver un jour ces types primitifs n'est pas niée par Hansen, cet auteur proteste seulement contre la continuation de débats arides et surannés ayant pour point de départ de simples hypothèses.

On doit aux communications de Takamine, de Juhler et de Jörgensen d'avoir vu, dans ces derniers temps, la question de la descendance des Saccharomyces être de nouveau mise à l'ordre du jour. Toutefois, on constate qu'on suit toujours les vieux errements. La question est de

savoir si ces nouvelles assertions, qui considèrent les Saccharomycètes comme descendant des moisissures vulgaires (*Aspergillus*, *Dematium*, etc.) sont solidement établies, ou si, comme jadis, elles reposent encore sur des faits erronés ; en d'autres termes, sommes-nous en présence d'une méthode par laquelle les moisissures peuvent être amenées à donner des Saccharomycètes ? Nos travaux exposés plus haut nous permettent de répondre *négativement* à cette question, et que les nouvelles assertions valent les anciennes. De plus, nos expériences d'isolement portant sur les *Dematium*, les *Cladosporium*, etc., montrent qu'une pareille descendance ne s'effectue pas plus dans la nature que dans le laboratoire.

Comme les cultures naturelles ne sont pas à l'état de pureté, on aurait pu penser qu'une symbiose était peut-être nécessaire pour favoriser ou provoquer ce phénomène. Aussi, sans perdre de vue cette idée, dans nos expériences sur l'*Aspergillus oryzæ*, eûmes-nous le soin de semer cette moisissure conjointement avec des bactéries ou des cellules de levure, mais le résultat fut le même que lorsque nous opérions avec des cultures pures. Précisément, dans nos essais d'isolement il existait entre les divers organismes choisis la symbiose, mise en jeu par la nature elle-même, conséquemment, il s'offrait une occasion des plus favorable pour que le phénomène cherché pût se manifester, s'il était au pouvoir d'une symbiose de le provoquer ; mais il ne se présenta pas.

Voici brièvement la conclusion principale de nos recherches :

Jusqu'à ce jour il n'existe pas un seul fait démontrant que les Saccharomycètes soient des phases d'involution d'autres Champignons ; toutes les assertions avancées jusqu'ici sont inexactes ; il est vraisemblable que, de même que les Exoascées, les Saccharomycètes sont des organismes indépendants ayant les mêmes phases de développement morphologiques et qu'enfin les Saccharomycètes doivent jusqu'à nouvel ordre être considérés comme des organismes indépendants.

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE
ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*) (1)

Par le Dr P. MIQUEL

Action de l'eau sur le ferment soluble de l'urée

Il est généralement admis que l'addition d'un excipient neutre à une substance dont la fonction chimique est nettement déterminée a pour effet de diminuer l'énergie de cette fonction, proportionnellement à la quantité d'excipient ajouté, quand, bien entendu, on fait agir, dans toutes les expériences, la substance diluée sous un même volume : si un volume donné de solution de chlorure de calcium précipité par du sulfate de soude donne 40 grammes de sulfate de baryte, cette solution diluée au demi et au quart n'en donnera plus que 20 et 10 grammes si on la fait agir sous le même volume, et toujours 40 grammes si on précipite la totalité de la dilution.

On observe rien de pareil avec le ferment soluble de l'urée, plus sa dilution est grande et plus rapidement accelérée est la diminution de son pouvoir fermentaire.

Expérience I. — Un échantillon de ferment soluble, âgé de 15 jours, stérilisé à froid par filtration, et possesseur d'une activité très ordinaire, est divisé en deux parties égales.

L'une est additionnée de son volume d'eau ;

L'autre est gardée comme témoin.

Ces deux liquides font immédiatement l'objet d'essais parallèles.

	Urée disparue par litre dans l'échantillon :	
	pur	étendue de son volume d'eau
Au bout de 20 minutes	6gr8	3gr2
» 1 h. 20	26 1	7 9
» 2 h. 20	29 3	11 1

(1) Voir les tomes précédents de ces *Annales*.

A ce moment l'activité hydratante de ces deux échantillons s'était complètement exercée, et on voit qu'à une dilution au demi de la diastase considérée correspond une perte d'énergie fermentaire de 62 p. 100, alors qu'on aurait pu naturellement la supposer seulement égale à 50 p. 100.

Quand le ferment soluble de l'urée est d'une extrême jeunesse l'action néfaste que l'eau paraît exercer sur son activité est encore plus manifeste.

Expérience II. — Une solution d'urase âgée de 7 jours, filtrée et moyennement active, est étendue de la façon suivante :

30cmc,00	de la solution diastasique reçoivent	10cmc,00	d'eau
20 00	»	20 00	»
10 00	»	30 00	»

c'est-à-dire que 30 centimètres cubes, 20 centimètres cubes, 10 centimètres cubes de bouillon diastasique sont ramenés par de l'eau pure, bouillie et refroidie à 40 centimètres cubes; puis à chacun de ces mélanges on ajoute 5 p. 100 d'urée, ainsi qu'à un témoin non additionnée d'eau d'un volume de même égal à 40 centimètres cubes.

L'hydrolyse est effectuée comme toujours à 48-50 degrés.

Voici les résultats des dosages comparatifs opérés sans retard :

	Urée disparue par litre dans la solution diastatique étendue d'eau :			
	à 25 p. 100	à 50 p. 100	à 75 p. 100	à p. 100 (témoin)
Au bout de 1 heure	9gr6	6gr1	1gr7	21gr4
» 2 heures	11 4	7 9	1 9	36 8
» 24 »	13 3	8 7	2 0	45 7

Dans cette expérience l'addition de 3 parties d'eau à une solution de ferment soluble suffit pour anéantir à peu près complètement l'urase. De plus, la toxicité de l'eau peut être considérée comme instantanée, puisqu'elle se manifeste immédiatement par la perte de plus de 95 p. 100 de son énergie. L'addition de 2 parties d'eau pour 2 parties de solution diastasique, qui devrait avoir pour effet de diminuer cette énergie de 50 p. 100, la diminue de 80 p. 100 et de 70 p. 100 si elle est étendue de 25 p. 100 d'eau.

Ces faits sont, certainement, très intéressants à constater,

et ils trouvent difficilement leur explication dans les idées actuelles qui attribuent aux substances chimiques une action en rapport avec les poids mis à réagir.

Quel est ici le rôle de l'eau ? Faut-il attribuer à la faible quantité d'oxygène qu'elle tient en dissolution après ébullition et refroidissement cet apauvrissement si remarquable de la diastase ? Je ne partage pas cette opinion, je crois beaucoup plus probable que l'eau altère la nature même de la sécrétion, comme la chaleur altère l'albumine, la caséine, etc., ou dilue, ce qui au fond revient au même, les substances protectrices qui accompagnent les diastases dans les cultures. Nous voyons, en effet, que lorsque la diastase a vieilli elle se montre beaucoup moins sensible à la dilution par l'eau que quand elle est récemment sécrétée, et cette plus grande résistance, qu'elle acquiert par le temps, est manifeste quels que soient les agents physiques ou chimiques auxquels on la soumette.

A l'appui de cette affirmation, je citerai l'expérience suivante, la seule que je puisse retrouver dans mes notes de laboratoire.

Expérience III. — La solution diastasique utilisée ici avait été stérilisée à la bougie Chamberland et conservée pendant 48 jours dans un courant de gaz à éclairage. Elle fut diluée au 1/2, au 1/3 et au 1/6, puis chargée de 5 p. 100 d'urée pure.

	Urée disparue par litre dans les solutions de ferment soluble :			
	Diluée à 1/2	Diluée à 1/3	Diluée à 1/6	non diluée
Au bout de 1 heure	10gr7	4gr3	1gr4	23gr2
» 2 heures	19 8	8 6	2 5	38 6
» 3 »	20 0	12 8	2 5	40 0

Les bouillons dilués au 1/2 et au 1/3 ont une énergie proportionnelle à leur degré de dilution, il n'en est pas de même de celle qui a été étendue de 5 fois son volume d'eau, ce qui tient peut-être à ce que l'addition du volume d'eau a été relativement excessive.

Action du sucre et de la glycérine sur le ferment soluble de l'urée

Qu'on arrive à diminuer dans une proportion plus ou moins grande, l'action d'une solution diastasique sur

l'urée en prélevant une certaine quantité de cette solution qu'on remplace par un égal volume d'eau, ce résultat peut paraître naturel ; on comprend, il est vrai, plus difficilement que l'hydratation ne soit pas exactement diminuée du poids du ferment soluble enlevé ; mais, qu'en remplaçant cette quantité par une substance absolument différente du ferment on arrive à produire une hydratation supérieure à celle qu'aurait fourni le ferment s'il était resté pur, ce fait devient plus difficile à interpréter et rentre dans le domaine des phénomènes curieux que j'ai déjà signalés dès l'année 1891 (1).

Les substances qui, ajoutées à l'urase, loin d'affaiblir son action comme l'eau distillée peuvent l'exalter considérablement sont : l'eau saccharosée et la glycérine. Dans tous les essais que je vais rapporter je me suis servi de la glycérine et du sirop de sucre simple utilisés dans les pharmacies ; enfin les expériences qui suivent ont été conduites comme celles qui avaient pour but de mesurer l'influence de l'eau sur les solutions du ferment soluble ; les échantillons de ce ferment provenaient dans ces essais particuliers de la même culture, on n'y touchait pas quand il s'agissait de se procurer des témoins ; toute addition de glycérine ou de sirop de sucre se faisait après avoir soulevé à la pipette un volume connu de bouillon diastasique qui était immédiatement remplacé par le même volume de glycérine ou de sirop simple.

Expérience IV. — Une solution d'urase, relativement vieille, âgée de 38 jours, partagée en quatre parties égales, reçoit 25 p. 100 d'eau, 25 p. 100 et 50 p. 100 de sirop de sucre ; les dosages accusent au bout de 2 heures les hydratations suivantes :

	Urée disparue par litre dans la solution :			
	témoin	chargée de 25 p. 100 d'eau	chargée de 25 p. 100 de sirop	chargée de 50 p. 100 de sirop
Au bout de 1 heure	24gr6	13gr6	17gr9	9gr3
» 2 heures	38 2	22 2	30 0	16 8

Un essai identique est exécuté quelques jours plus tard avec la

(1) Miquel, *Annales de Micrographie*, t. III, p. 310.

même diastase, seulement plus âgée de 5 jours; il donne les chiffres suivants :

	Urée disparue par litre dans la solution :			
	témoin	chargée de 25 p. 100 d'eau	chargée de 25 p. 100 de sirop	chargée de 50 p. 100 de sirop
Au bout de 1 heure	21gr2	11gr3	13gr1	6gr7
» 2 heures	37 5	20 6	31 8	17 4

De ces deux séries de dosages, il résulte qu'à égal volume l'eau affaiblit considérablement l'action de la diastase, tandis que le sucre laisse subsister sa faculté hydratante dans des proportions beaucoup plus élevées. Si l'on porte à 50 p. 100 ce volume du sirop, la diastase est affaiblie dans les cas envisagés d'un peu plus de la moitié.

Mais ce que je désire surtout faire ressortir de cette expérience IV, c'est l'innocuité que semble présenter à l'égard de la diastase, le sirop de sucre, si on le compare à l'eau. Il semble qu'avec lui tout se passe comme s'il jouait à l'égard du ferment soluble le rôle d'une substance à peu près neutre, tandis que l'eau semble jouer le rôle d'une substance antiseptique.

Citons encore une expérience de ce genre, mais où le sucre commence à manifester son excitation dans le phénomène de l'hydratation de l'urée.

Expérience V. — Une solution diastasique âgée de 18 jours reçoit les volumes de sirop indiqués dans le tableau suivant, en remplacement d'un égal volume de diastase.

	Urée disparue par litre dans la solution :				
	Témoin	Chargée de sirop de sucre à			
		25 p. 100	30 p. 100	40 p. 100	50 p. 100
Après 1 heure	7gr5	8gr2	7gr5	6gr8	6gr1
» 2 heures	17 1	18 2	17 3	15 4	12 9
» 3 »	27 8	27 5	26 6	22 8	19 4
» 4 »	35 0	35 3	35 0	29 6	25 7

D'où l'on peut déduire de là qu'on peut retrancher jusqu'à 30 p. 100 du volume du bouillon diastasifère et le remplacer par un égal volume de sirop simple sans parvenir à affaiblir d'une façon sensible la quantité d'urée hydra-

tée. Il n'est pas moins remarquable de constater que, sous le volume de 40 p. 100, l'énergie du ferment soluble n'est diminuée que de 1/6 de ce qu'elle était lorsque ce dernier était pur.

L'expérience suivante nous réserve une surprise encore plus grande, l'addition de 20 p. 100 de sirop de sucre à une diastase jeune peut avoir pour effet de tripler son action destructive sur la carbamide. Ce phénomène, qui me parut suspect la première fois que je le constatai, s'est cependant reproduit avec constance dans une longue série d'essais parmi lesquels je choisis le suivant :

Expérience VI. — Une solution d'urase âgée de 11 jours relativement peu active, filtrée à la bougie, fut additionnée de 20 p. 100 de sirop de sucre, après soustraction d'un égal volume de solution. Le témoin et la diastase sucrée furent additionnés de 80 p. 1000 d'urée pure, puis placés pendant 24 heures à 48-50 degrés. Les dosages effectués parallèlement donnèrent les chiffres suivants :

	Urée disparue par litre dans la solution :	
	Témoin	Chargée de 20 p. 100 de sirop
Après 1 heure	15 gr 1	19 gr 5
» 2 heures	19 6	37 5
» 3 »	19 6	50 2
» 24 »	19 2	50 0

Cette action excitatrice ou protectrice du sucre nous allons dorénavant la constater dans nos essais, à moins toutefois que la solution diastasique ne soit très âgée.

Le sirop de glucose ne paraît pas jouir de la propriété des solutions de saccharose et de la glycérine, du moins, c'est ce qu'il résulte de quelques expériences faites avec le sirop de glucose du commerce.

Pour éviter d'entrer dans des longueurs d'exposition, je vais reproduire brièvement dans les pages suivantes, les résultats comparatifs, relatifs à l'action du sirop de sucre et de la glycérine sur les bouillons chargés d'urase d'âges divers et d'activité différente, il reste toujours entendu que, dans ces essais, les additions de sirop simple et de glycé-

rine officinale étaient complémentaires d'une soustraction d'un volume égal de liquide actif.

TABLEAU I

Solution de ferment soluble âgé de 35 jours

	Urée disparue par litre dans la solution : Témoin	glycerinée à 33 p. 100	sirupée à 33 p. 100
Après 2 heures	21 gr 8	14 gr 3	19 gr 4
» 3 »	35 0	28 6	35 3
» 4 »	42 1	34 6	39 5

Additionnés de 33 p. 100 de sirop et de glycérine, la diastase relativement âgée voit encore son activité très notablement exagérée.

TABLEAU II

Solution de ferment soluble âgée de 32 jours

	Urée disparue par litre dans la solution : Témoin	glycérinée à 25 p. 100	sirupée à 25 p. 100
Après 1 heure	12 gr 3	11 gr 4	13 gr 6
» 3 heures	21 8	21 8	25 0
» 4 »	26 1	27 5	29 6

Bien que privée du quart de leur volume de liquide actif, les solutions sucrées et glycérinées se sont montrées plus fortement hydratantes que la solution témoin employée pure.

TABLEAU III

Solution de ferment soluble âgée de 26 jours

	Urée disparue par litre dans la solution : Témoin	glycérinée à 25 p. 100	sirupée à 25 p. 100
Après 1 heure	9 gr 3	8 gr 6	10 gr 0
» 2 heures	16 1	13 6	17 9
» 4 »	21 1	23 6	29 3

TABLEAU IV

Solution de ferment soluble âgée de 28 jours

	Urée disparue par litre dans la solution :		
	Témoin	glycérinée à 25 p. 100	sirupée à 25 p. 100
Après 1 heure	8 gr 2	7 gr 9	10 gr 0
» 2 heures	15 4	13 6	16 4
» 4 »	24 3	27 8	29 3

Prenons maintenant pour nos expériences des solutions diastasifères moins âgées et nous verrons que le pouvoir excitateur ou protecteur des deux substances choisies va aller en s'exagérant d'une façon tout à fait remarquable :

TABLEAU V

Solution de ferment soluble âgée de 22 jours

	Urée disparue par litre dans la solution :		
	Témoin	glycérinée à 25 p. 100	sirupée à 25 p. 100
Après 1 heure	10 gr 4	8 gr 6	11 gr 8
» 2 heures	21 8	20 3	27 5
» 3 »	27 1	31 4	37 8

TABLEAU VI

Solution de ferment soluble âgée de 20 jours

	Urée disparue par litre dans la solution :		
	témoin	glycérinée à 25 p. 100	sirupée à 25 p. 100
Après 1 heure	18 gr 9	15 gr 4	»
» 2 heures	31 8	32 9	39 gr 3
» 3 »	33 9	39 3	47 1
» 4 »	33 7	»	47 1

TABLEAU VII

Solution de ferment soluble âgée de 16 jours

	Urée disparue par litre dans la solution :		
	témoin	glycérinée à 25 p. 100	sirupée à 25 p. 100
Après 1 heure	20 gr 3	17 gr 9	21 gr 8
» 2 heures	31 4	31 1	39 3
» 3 »	35 7	43 6	50 3

Comme on l'aura remarqué dans les six tableaux qui précèdent, les diastases contenant 25 p. 100 de glycérine ont, dès le début, une action plus lente que la diastase témoin, plus tard, néanmoins, l'hydratation se montre plus élevée, ce qui m'a toujours fait penser que cette substance et le sirop de sucre se comportaient plutôt comme des agents protecteurs que comme des agents multiplicateurs d'une force chimique. C'est quand on opère avec des proportions de glycérine et de sirop de sucre les mieux appropriées, 20 p. 100 environ, qu'on obtient la destruction maximum de l'urée; en voici un nouvel exemple qu'on peut rapprocher de l'expérience VI de la page 307.

TABLEAU VIII

Solution faible de ferment soluble âgée de 10 jours

	Urée disparue par litre dans la solution :		
	témoin	glycérinée à 20 p. 100	sirupée à 20 p. 100
Après 1 heure	12gr 5	14gr 3	17gr 5
» 2 »	17 9	30 3	35 0
» 3 »	18 5	41 4	49 1
» 24 »	18 3	41 1	50 6

Au contraire, je le répète, si la diastase est âgée, ces additions de glycérine et de sirop n'ont plus qu'un effet peu marqué sur le phénomène de l'hydrolyse, elles deviennent de plus en plus indifférentes et même d'un effet nul ou négatif, quand les diastases sont vieilles de 8 à 10 mois.

TABLEAU IX

Diastase moyennement active âgée de 79 jours

	Urée disparue par litre dans la solution :		
	témoin	glycérinée à 20 p. 100	sirupée à 20 p. 100
Après 1 heure	12gr 5	11gr 2	13gr 1
» 2 heures	27 1	21 4	24 3
» 3 »	31 8	28 9	33 6

Passons maintenant à l'étude des substances qui possèdent une action destructive ou neutralisante sur le ferment soluble qui nous occupe.

Action des antiseptiques sur l'urase

Nous envisagerons d'abord les substances qui ont sur l'urase un pouvoir neutralisant faible et ensuite celles qui la détruisent rapidement.

Antiseptiques faibles

Sel marin. — Le sel n'exerce qu'un pouvoir neutralisant faible sur le ferment soluble de l'urée, mais d'autant plus élevé que la diastase est plus jeune.

Ferment soluble âgé de 32 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon salé p. 100 :					
	témoin	à 1,25	à 2,50	à 3 75	à 5.00	à 6,25
Ap. 1 heure	8 gr 2	8 gr 2	7 gr 8	7 gr 5	7 gr 3	7 gr 4
» 2 heures	15 4	15 7	15 3	15 0	14 0	13 2
» 4 »	24 3	25 3	23 2	23 2	22 9	22 1

Ferment soluble âgé de 14 jours

	Urée disparue par litre dans la solution		
	témoin	salée à 6,25 p. 100	salée à 8,75 p. 100
Après 1 heure	7 gr 5	7 gr 1	6 gr 1
» 2 heures	17 1	14 3	11 3
» 3 »	27 8	22 1	17 1
» 4 »	35 0	27 8	21 4

Sulfate de soude et de magnésie. — Ce n'est qu'en employant des doses très élevées de ces sels qu'on parvient à détruire ou à précipiter l'urase. Dans le voisinage de 6 à 7 p. 100, leur action devient très manifeste ; le sulfate de magnésie se montre plus actif que le sulfate de soude.

Solution de ferment âgée de 16 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon			
		chargée de		
	témoin	6,75 p. 100 de sulfate de soude	6,75 p. 100 de sulfate de magnésie	6,75 p. 100 de sel marin
Après 1 heure	6 gr 7	6 gr 1	5 gr 0	4 gr 6
» 2 heures	11 7	11 1	6 1	6 6
» 3 »	15 4	13 6	7 4	6 8

Comme on voit, avec la solution mise en expérience, le sel marin se montre plus fortement antiseptique que le sulfate de magnésie, le sulfate de soude touche à peine à l'activité de l'urase.

Carbonate d'ammonium. — Le carbonate d'ammoniaque lui-même, qui s'accumule souvent en si grande quantité dans les solutions diastasiques soumises à l'hydrolyse, semble jouir d'une action limitée, il est vrai, mais très appréciable sur l'urase.

Expérience unique. — Deux flacons sont à peu près remplis par un égal volume de solution de ferment soluble âgée de 30 jours et filtrée à la bougie Chamberland.

L'un de ces flacons reçoit une quantité de carbonate d'ammoniaque représentant la destruction de 17 p. 100 d'urée pure par litre, l'autre est possesseur d'une alcalinite correspondant seulement à l'hydratation de 1gr,4 par litre.

Ces deux flacons sont additionnés de 4 p. 100 d'urée et plongés, après le dosage alcalimétrique servant de repère, dans un bain d'eau maintenu à 49-50 degrés.

	Urée disparue par litre dans le flacon	
	témoin	chargée de carbonate d'ammonium
Départ	1 gr 4	18 gr 8
Après 2 heures	18 8	32 5
» 3 »	21 4	35 7

dans le flacon témoin on constate l'hydratation de 18gr,9 d'urée et dans celui qui a reçu une dose relativement faible de 16gr,8 de carbamide.

Chloroforme. — Quelques auteurs ont prétendu que le chloroforme qui s'oppose manifestement, dans beaucoup de

circonstances, à la vie des champignons et des bactéries n'entravait pas l'action des ferments solubles; si cela est exact pour l'invertine et plusieurs autres diastases, relativement peu sensibles aux agents chimiques que nous avons déjà étudiés et qu'il nous reste à passer en revue, il n'en est pas ainsi de l'urase dont l'action fermentaire est fortement influencée par les vapeurs chloroformiques.

Ce point qu'il importait d'élucider m'a porté à multiplier les essais dont les principaux sont rapportés dans les cinq tableaux suivants :

TABLEAU I

Diastase filtrée âgée de 8 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon :	
	témoin	chloroformé
Après 1 heure	17 gr 5	10 gr 0
» 2 heures 30	40 2	12 1

La chloroformisation des bouillons diastasifères s'est toujours pratiquée en ajoutant un excès de chloroforme pur, exempt d'alcool, dans la solution d'urase, et en agitant un instant le vase pour saturer le liquide aussi rapidement que possible.

TABLEAU II

Diastase filtrée âgée de 11 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon :	
	témoin	chloroformé
Après 1 heure	15 gr 4	3 gr 9
» 2 heures	20 3	4 3

Quand la diastase est moins âgée, l'action qu'exerce sur elle le chloroforme devient bien moins sensible.

TABLEAU III

Diastase filtrée âgée de 32 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon :	
	témoin	chloroformée
Après 1 heure	14 gr 3	5 gr 8
» 2 heures	18 1	9 6
» 3 »	19 6	9 6

TABLEAU IV

Diastase filtrée âgée de 95 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon : témoin	chloroformée
Après 1 heure	15gr 7	15gr 0
» 2 heures	29 4	22 1
» 24 »	49 9	40 1

Avec les solutions diastasiques faibles, vieilles de 6 à 8 mois, les vapeurs chloroformiques se sont souvent montrées sans action, sur la marche de la fermentation, ce qui fait mieux ressortir, encore, que les sécrétions cellulaires récemment produites sont très sensibles aux agents chimiques, même quand ces agents ont pu paraître dans quelques cas d'une action nulle ou peu sensible.

Cette action néfaste du chloroforme sur l'urase s'exagère considérablement avec la température, ainsi que le démontre l'essai suivant :

EXPÉRIENCE. — Trois vases de même forme et de même capacité reçoivent chacun 100 centimètres cubes d'une solution diastasique filtrée âgée de 16 jours. L'un d'eux est conservé comme témoin. Les deux autres reçoivent un excès de chloroforme, avec cette différence qu'on fait agir pendant 4 heures le chloroforme sur l'un des bouillons, tandis que le second ne le reçoit qu'au moment de l'hydrolyse ; c'est-à-dire à l'instant où l'urée est introduite dans les trois vases et où ces vases sont plongés dans le bain-marie porté à 48-50 degrés.

Les résultats obtenus furent les suivants :

TABLEAU V

	Urée disparue par litre dans le bouillon :		
		Chloroformé	
	témoin	4 heures avant l'hydrolyse	au moment de l'hydrolyse
Après 1 heure	32gr 4	18gr 9	17gr 7
» 2 heures	50 5	21 2	21 1
» 3 »	50 5	22 3	22 8
» 4 »	50 3	22 2	22 8

Après une action de 4 heures exercée à la température ordinaire, le chloroforme ne semble donc pas avoir agi d'une façon appréciable sur la diastase, tandis qu'après 2 heures d'action des vapeurs de corps à 48-50 degrés l'énergie de l'urase était plus qu'à moitié détruite.

Chlorure de calcium. — Quand on ajoute, goutte à goutte, à un bouillon diastasique filtré, toujours alcalin et chargé de carbonate d'ammoniaque, une solution faible de chlorure de calcium, on voit se former peu à peu un précipité insoluble en même temps que la teneur du bouillon en urase diminue de plus en plus, et finit totalement par disparaître.

Solution de ferment âgée de 11 jours

				Urée disparue par litre
Témoin				25 gr 0
Bouillon	+ 2	gouttes sol. de chlorure	de calcium	21 . 1
»	+ 4	»	»	18 5
»	+ 6	»	»	11 8
»	+ 8	»	»	7 2
»	+ 10	»	»	4 3
»	+ 12	»	»	1 7
»	+ 14	»	»	0 0

Si on recueille le précipité ainsi obtenu et qu'on le fasse agir sur de l'urée en solution convenablement étendue, il se montre toujours incapable de déterminer la plus faible hydratation. Le ferment soluble entraîné tant par le carbonate de chaux que par les phosphates précipités semble à tout jamais rendu inactif sinon détruit.

Alcool. — Si au chlorure de calcium on substitue des volumes croissants d'alcool éthylique absolu, il se produit ordinairement dans les bouillons diasastiques un précipité léger appréciable à l'œil, quand le volume d'alcool égale la cinquième ou la sixième partie du bouillon traité. Ce précipité va rapidement en augmentant à mesure que l'alcool absolu ajouté devient plus considérable ; on voit apparaître, en dernier lieu, les sels, la peptone inattaqués, puis finalement des matières gommeuses très solubles dans l'eau. Mais ici les précipités formés par l'alcool ne sont pas tous

inactifs vis-à-vis de la carbamide. Les premiers qui se forment sont ceux qui renferment le plus de ferment soluble, les derniers n'en contiennent pas sensiblement.

D'après nos essais, la quantité d'alcool absolu qui donne le rendement maximum en ferment solide, actif, précipité est fort voisine de celle qui porte à 2 volumes un volume donné de solution diastasifère. Si on récolte le précipité obtenu sur un filtre, qu'on le lave quelques instants avec de l'alcool à 50° centésimaux et qu'on le reprenne ensuite par l'eau pure, il agit sur l'urée, mais son énergie initiale est réduite de moitié.

Le ferment précipité par l'alcool, redissous dans de l'eau distillée bouillie et refroidie se conserve aussi bien que dans les bouillons de culture filtrés à la bougie, mais il est loin d'agir avec la promptitude des ferments qui n'ont subi aucun traitement. Le ferment précipité et redissous rappelle ces vieilles diastases conservées pendant six mois dans un courant de gaz à éclairage, c'est-à-dire que son action est devenue lente et sa résistance aux agents physiques et chimiques beaucoup plus grande que son âge le comporte.

Je n'ai pas étudié les propriétés de l'urase solide obtenue par précipitation sur l'alcool vinique, c'est là une lacune qu'il est très intéressant de combler, si on arrive par quelques artifices du laboratoire à la protéger contre les causes d'altération nombreuses qui détruisent progressivement son activité fermentaire.

J'ai étudié, au contraire, l'action destructive qu'exerce sur son pouvoir hydratant l'alcool ajouté, par faibles quantités, à un volume *constant* de bouillon diastasique assez âgé. Les résultats de ces essais sont consignés dans le tableau suivant :

Urée disparue par litre dans le

	Après 2 heures	Après 48 heures
Bouillon témoin	23 gr 3	23 gr 1
» + 1 : 100 d'alcool absolu	21 4	21 3
» + 1 : 50 »	20 3	20 1
» + 1 : 40 »	19 5	20 0
» + 1 : 30 »	18 8	18 5

Urée disparue par litre dans le (suite)

			Après 2 heures	Après 48 heures
Bouill. témoin	+ 1 :	16 d'alcool absolu	17gr2	17gr3
»	+ 1 :	15 »	16 1	16 0
»	+ 1 :	14 »	15 4	15 6
»	+ 1 :	13 »	13 7	13 9
»	+ 1 :	12 »	13 6	13 6
»	+ 1 :	11 »	12 2	12 1
»	+ 1 :	10 »	12 5	12 4
»	+ 1 :	9 »	12 9	12 6
»	+ 1 :	8 »	12 5	12 1
»	+ 1 :	7 »	11 8	11 7
»	+ 1 :	6 »	10 0	10 0
»	+ 1 :	5 »	7 1	6 9

La quantité, relativement faible, d'alcool ajoutée au bouillon n'avait commencé à produire un léger précipité que sous le volume de 1 : 5, d'où l'on peut conclure que l'alcool exerce une action antiseptique très appréciable sur le ferment soluble de l'urée.

Les homologues supérieurs de l'alcool éthylique se montrent encore, bien plus que ce dernier, néfastes pour l'urase. La faible quantité d'alcool amylique qui peut se dissoudre dans les bouillons s'oppose à peu près complètement au phénomène de l'hydratation.

Bouillon diastasique âgé de 12 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon :	
	témoin	addition d'alcool amylique
Après 1 heure	30gr8	3gr2
Après 2 heures	40 6	3 9

Les essences, notamment l'essence de térébenthine, l'essence de girofle, l'essence de thym ont également la propriété de suspendre rapidement la décomposition de l'urée par l'urase.

Action de quelques antiseptiques énergiques sur l'urase

Les acides, quelle que soit leur nature, ont une action destructive à peu près immédiate sur le ferment soluble de

l'urée. Dès que les solutions de ce ferment cessent d'être neutres et manifestent un degré d'acidité appréciable aux réactifs, elles perdent instantanément leur faculté hydrolytique. J'ai fait, à cet égard, plusieurs expériences avec les acides sulfurique et chlorhydrique, et les résultats n'ont pas varié. La simple opération de la neutralisation entraîne elle-même une destruction très notable d'urase.

	Urée disparue par litre dans le bouillon	
	témoin alcalin	neutralisé
Après 1 heure	14 gr 4	10 gr 7
» 2 heures	29 9	24 3
» 3 »	29 9	24 3

Cette perte d'activité n'est pas insignifiante, puisqu'elle s'élève à 18,6 p. 100.

Si aux bouillons diastasifères neutres, qui ont par conséquent déjà perdu de leur énergie par le fait de leur neutralisation, on ajoute des doses très faibles d'acides, on obtient les chiffres consignés ci-après :

	Urée disparue par litre dans un bouillon diastasifère titrant 48 gr 6 acidifié par	
	l'acide sulfurique	l'acide chlorhydrique
à 1 : 1.000	0 gr 0	0 gr 0
1 : 2.000	0 0	0 0
1 : 4.000	0 0	0 0
1 : 6.000	1 4	4 3
1 : 10.000	2 6	11 5

Les acides organiques lactique, tartrique, citrique exercent une action un peu moins puissante sur l'urase que les acides minéraux, mais déjà à 1 : 500 ils détruisent complètement son pouvoir hydratant.

Les acides à réaction faible, comme les acides borique, benzoïque, salicylique, agissent surtout sur l'urase par leur pouvoir toxique ou antiseptique, souvent à des doses beaucoup plus faibles que les acides à réaction énergique.

A 1 : 500 les acides benzoïque et salicylique paralysent à peu près complètement le pouvoir hydratant du ferment soluble de l'urée.

L'acide borique, à dose faible, assez peu toxique pour les microbes, neutralise la diastase que nous étudions d'une manière tout à fait remarquable sous un poids très minime. Il était intéressant d'établir le pouvoir neutralisant de ce corps sur l'urase en raison de l'usage thérapeutique que ce corps a reçu du professeur Guyon, qui l'a préconisé en injections dans la cavité vésicale des urinaires affligés d'ammoniurie. Si l'acide borique est impuissant à détruire les germes des urobacilles, on a vu qu'il suspend aisément leur développement, et nous allons voir qu'il neutralise énergiquement le ferment soluble de l'urée, ce qui est un double bienfait.

Ferment soluble âgé de 32 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon : au bout de 1 heure	au bout de 2 heures	au bout de 2 h 30
Témoin	23 gr 7	39 gr 4	40 gr 5
Boriqué à 1 : 5.000	5 0	10 3	11 8
» à 1 : 4.000	5 1	8 6	9 3
» à 1 : 3.000	5 0	7 4	7 4
» à 1 : 2.000	2 9	4 3	4 3
» à 1 : 1.000	1 5	1 9	1 9
» à 1 : 500	0 0	0 0	0 0

Les nombres insérés dans ce tableau suffisent amplement pour établir que l'acide borique, reconnu peu toxique pour les espèces animales, est une substance antidiastasique très efficace et digne d'être employée dans les affections vésicales qui s'accompagnent de la fermentation ammoniacale des urines.

Alcalis. — Nous avons vu que le carbonate d'ammonium exerce une action nocive manifeste sur l'urase. Quand on fait agir sur elle les alcalis puissants, tels que la potasse ou la soude caustique, on reconnaît que leur action est considérablement plus nuisible, et qu'un excès d'alcalinité pas plus qu'une acidité manifeste ne sont favorables à l'hydrolyse au moyen du ferment soluble sécrété par les espèces urophages :

Ferment soluble âgé de 15 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon : après 3 heures	après 48 heures
Témoin	42gr 8	42gr 9
Alcalinisé à 1 : 2.000 Na^2OH	37 8	37 8
» à 1 : 1.000 »	35 3	35 0
» à 1 : 500 »	16 4	16 0
» à 1 : 333 »	11 3	»
» à 1 : 250 »	0 0	0 0
» à 1 : 133 »	0 0	0 0
» à 1 : 100 »	0 0	0 0
» à 1 : 50 »	0 0	0 0

A partir de 1 : 300 de soude caustique, les bouillons diastasifères ont donné un précipité très apparent, floconneux, et leur activité s'est éteinte brusquement.

Phénol. — On pouvait supposer qu'un désinfectant d'une action efficace sur le développement de la plupart des microorganismes jouirait à l'égard de l'urase d'un pouvoir neutralisant énergique. Il ressort de nos essais que l'aide phénique ne saurait à cet égard devoir être comparé à l'acide borique, même quand les solutions diastasiques sont très jeunes, comme dans les essais suivants :

Diastase âgée de 6 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon : Témoin	phéniquée à 1 : 500
Après 1 heure	7gr 7	3gr 9
» 2 heures	14 4	5 0
» 3 »	14 6	6 1

Même diastase âgée de 16 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon : après 1 heure	après 2 heures
Témoin	8gr 3	14gr 5
Phéniqué à 1 : 2.000	6 8	11 4
» à 1 : 1.500	6 8	11 4
» à 1 : 1.000	6 8	11 4
» à 1 : 500	6 4	10 7
» à 1 : 200	6 1	8 9
» à 1 : 100	5 3	7 0
» à 1 : 50	3 1	3 0
» à 1 : 25	1 4	1 8

Dans ce second essai ce n'est qu'à la dose de 1 : 200 que l'acide phénique commence à entraver sérieusement l'hydrolyse.

Sulfate de cuivre. — Ce sel métallique, qui immobilise le developpement des bactéries à la dose de 1 à 2 millièmes, se montre un agent puissant de destruction de l'urase; il l'altère déjà très profondément à de 1 : 10.000 et à 1 : 20.000, alors même qu'elle est âgée de 30 à 40 jours.

TABLEAU I

Ferment soluble datant de 32 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon : après 1h20	après 2h40
Témoin	8gr 1	15gr 7
Addition, de 1 : 20.000 de sulfate de cuivre	0 9	1 6
» 1 : 10.000 »	0 0	0 4
» 1 : 5.000 »	0 0	0 0
» 1 : 4.000 »	0 0	0 0
» 1 : 3.000 »	0 0	0 0
» 1 : 2.000 »	0 0	0 0
» 1 : 1.000 »	0 0	0 0

TABLEAU II

Ferment soluble faible datant de 68 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon : après 2 heures	après 24 heures
Témoin	15gr 0	15gr 4
Addition de 1 : 10.000 de sulfate de cuivre	2 9	2 8
» 1 : 7.500 »	1 9	1 2
» 1 : 5.000 »	0 2	0 2
» 1 : 3.000 »	0 0	0 0
» 1 : 1.000 »	0 0	0 0

Dans un essai exécuté avec une diastase de six mois, d'une énergie représentée par 17,6, l'addition de 1 : 2.000 de sulfate cuprique suffit pour la réduire à 2,9.

Mercuriaux. — Les sels de mercure sont encore les composés métalliques dont l'action se fait sentir le plus puissamment sur les solutions d'urase, ils agissent sur elles à doses infinitésimales, souvent inappréciables aux réactifs les plus sensibles de la chimie.

J'ai multiplié beaucoup mes essais avec les mercuriaux pour le motif que, dès le début de mes recherches, j'obtenais des résultats contradictoires dont la cause m'a été révélée par la façon différente dont se comportent ces substances toxiques sur les diastases jeunes et âgées. C'est principalement avec les mercuriaux que se manifeste le fait curieux de l'affaiblissement du pouvoir toxique des antiseptiques sur les diastases en voie de vieillissement.

Le biiodure de mercure a été employé en solution iodurée parallèlement au sublimé, mais il n'agit pas d'une façon différente du sublimé, il se montre uniquement un peu moins toxique que lui.

TABLEAU I

Ferment soluble peu actif âgé de 25 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon :	
	après 2 heures	après 24 heures
Témoin	17 gr 6	»
Hydrargyré à 1 : 100.000	0 7	0 5

TABLEAU II

Ferment soluble assez actif âgé de 15 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon :	
	après 2 heures	après 24 heures
Témoin	23 gr 2	23 gr 3
Hydrargyré à 1 : 100.000	0 1 (?)	0 0

TABLEAU III

Ferment soluble peu actif âgé de 10 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon :	
	après 2 heures	après 24 heures
Témoin	14 gr 3	15 gr 7
Hydrargyré à 1 : 100.000	0 0	0 0

TABLEAU IV

Ferment soluble peu actif âgé de 24 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon : après 2 heures	après 24 heures
Témoin	14 gr 8	14 gr 3
Hydrargyré à 1 : 200.000	1 1	1 0

Le tableau produit ci-dessous montre d'une façon encore plus frappante l'excessive toxicité des sels de mercure sur l'urase.

TABLEAU V

Ferment soluble actif âgé de 10 jours

	Urée disparue par litre dans le bouillon : après 1 heure	après 24 heures
Témoin	33 gr 4	37 gr 8
Hydrargyré à 1 : 1.000.000	16 7	19 6
» à 1 : 900.000	5 3	8 7
» à 1 : 800.000	2 5	2 5
» à 1 : 700.000	1 4	1 3
» à 1 : 600.000	1 0	1 0
» à 1 : 500.000	0 3	0 4
» à 1 : 400.000	0 3	0 3
» à 1 : 300.000	0 0	0 0
» à 1 : 200.000	0 0	0 0
» à 1 : 100.000	0 0	0 0

Un millionième de sublimé détruit donc la moitié de l'énergie de la diastase mise en expérience. Un cinq cent millième de sublimé peut, dans le cas qui vient d'être rapporté, faire disparaître à peu près complètement cette énergie. Il s'agit surtout d'une intoxication, car l'œil n'aperçoit aucun précipité après l'addition de ces faibles quantités de bichlorure de mercure ; il en a été de même dans les expériences qui suivent, grâce à la présence du sel marin (5 p. 1000) qui existe dans les bouillons diastasiques et qui s'oppose a cette précipitation, tant que la dose de sublimé ajoutée ne dépasse pas 1 : 5.000.

Quand le ferment est âgé, avons-nous dit, le bichlorure de mercure est beaucoup moins actif. J'ai pu faire agir ce corps sur la *même solution* diastasique jeune et âgée environ de 3 mois et les résultats obtenus sont intéressants à comparer :

TABLEAU VI

Ferment soluble provenant de la même culture

	Urée disparue par litre dans la diastase :			
	âgée de 16 jours		âgée de 85 jours	
	témoin	hydrargyrée à 1 : 125.000	témoin	hydrargyrée à 1 : 125.000
Après 1 heure	25 gr 0	0 gr 2	20 gr 5	2 gr 2
» 2 heures	35 8	0 3	28 1	3 9
» 3 »	37 2	0 7	31 8	4 7

Enfin, lorsque la diastase est très vieille et que le sublimé est employé à dose égale ou peu inférieure à 1 : 100.000, elle subit une modification peu importante, qui ne l'empêche pas de mener à un assez haut degré le phénomène de l'hydratation de l'urée.

TABLEAU VII

Solution diastasique âgée de 130 *jours*

	Urée disparue par litre dans le bouillon :	
	témoin	hydrargyrée à 1 : 80.000
Après 1 heure 30	25 gr 3	22 gr 9
» 3 heures 20	42 5	37 6

TABLEAU VIII

Solution diastasique âgée de 168 *jours*

	Urée disparue par litre dans le bouillon :	
	témoin	hydrargyrée à 1 : 60.000
Après 1 heure	18 gr 9	16 gr 8
» 3 heures 20	46 4	43 6

J'ai également essayé l'action d'autres antiseptiques sur l'urase et j'ai trouvé qu'elle était, par exemple, très sen-

sible à l'action du chlore, du brome et de l'iode; que les essences de térébenthine, d'aspic, de girofle, d'amandes amères, comme je l'ai déjà remarqué, la neutralisaient souvent presque complètement ; mais ces expériences ne feraient pas ressortir mieux que celles qui précèdent l'extrême fragilité des solutions de ferment soluble de l'urée récemment préparées, je ne vois donc pas l'utilité qu'il y aurait à insister plus longuement sur ce sujet.

(*à suivre*).

REVUES ET ANALYSES (1)

Dr G.-B. Simoncini. — **De la pénétration des bactéries pathogènes à travers l'intestin à l'état normal et quand il a été exposé à l'action de désordres généraux de l'organisme** (*Annali d'Igiene sperimentale*, VII, p. 61).

Dans ses expériences, l'auteur s'est servi de la bactéridie charbonneuse avec et sans spores, du bacille de l'œdème malin, avec et sans spores, du bacille typhique et du staphylocoque pyogène doré. Après avoir constaté l'effet de leur ingestion par le tube digestif normal, il a renouvelé les expériences en soumettant d'abord les animaux d'expérience à l'action du jeûne, de la saignée, du froid, de la chaleur, de l'inoculation des produits de culture du bacille coli et de l'injection de diverses substances chimiques bien définies.

Voici les conclusions de son travail :

1° Les bactéries pathogènes introduites, même en grande quantité, dans les voies gastro-entériques d'animaux sains très sensibles aux infections produites par ces bactéries (cobayes, lapins) n'exercent aucune action pathogène. Seules, les spores charbonneuses font exception qui, ingérées en grandes quantités, produisent constamment l'infection charbonneuse générale.

2° La neutralisation du contenu stomacal des animaux pendant l'ingestion des bactéries ne modifie aucunement le résultat des expériences, ce qui exclut l'hypothèse que l'acidité du suc gastrique puisse être la cause du phénomène en question.

Mais le fait que les animaux chez lesquels, outre la neutralisation du contenu de l'estomac, on pratique une injection intrapéritonéale de teinture d'opium, meurent, quoique en faible proportion, soit avec des symptômes manifestes d'infection (charbon), soit avec ceux d'une intoxication (typhus), tandis que l'injection seule de teinture d'opium ne suffit pas pour produire cet effet, peut faire présumer que le suc gastrique puisse, au moins dans un certain nombre de cas et dans certaines conditions spéciales, concourir au résultat de défendre l'organisme contre les agressions bactériennes intestinales, influence qui serait en connexion avec des cir-

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

constances qui échappent encore, pour le moment, à notre connaissance.

3° La protection naturelle dont jouit l'organisme de par le fait des parois intestinales contre la pénétration des bactéries pathogènes persiste *dans la plupart des cas*, même quand le pouvoir physiologique de l'organisme est l'objet de désordres d'un degré approchant de la mort.

4° Les exceptions à cette règle sont représentées par les cas suivants :

a. L'action prolongée du froid sec détruit dans une proportion modérée (un tiers des cas) la résistance des parois intestinales à l'égard des *bacilles* du charbon ;

b. L'action prolongée du froid humide la détruit toujours à l'égard du bacille du charbon et de ses spores, quand celles-ci ont été ingérées en petite quantité et, dans un quart des cas, à l'égard du bacille typhique ;

c. Les injections intra-veineuses d'hydrate de chloral à dose sublétale déterminent, chez le lapin, l'infection charbonneuse par l'intestin, tant à la suite de l'ingestion de bacilles qu'à la suite de l'ingestion de spores en grande quantité.

E. F.

Dr Gaspard Fiore. — **De l'influence de la cuisson sur les viandes infectées** (*Annali d'Igiene sperimentale*, VII, p. 20).

Il résulte des recherches de l'auteur :

1° Que le meilleur moyen de détruire les germes pathogènes contenus dans la viande (bacilles et spores) est de la faire bouillir d'une manière prolongée ;

2° Que de rôtir au feu de petites tranches ou de gros morceaux au four ne suffit pas pour détruire les spores, mais que le rôtissage, poussé à ses extrêmes limites, suffit pour la destruction complète des formes bacillaires ;

3° Que de *braiser* seulement la viande ne détruit ni les spores, ni les bacilles.

E. F.

Dr G. Griglio. — **De la transmissibilité du charbon par les peaux et le cuir** (*Annali d'Igiene sperimentale*, VII, p. 50).

L'auteur a recherché jusqu'à quel point les peaux d'animaux charbonneux peuvent transmettre le charbon et si le tannage leur enlève leurs propriétés infectantes. Il est arrivé aux résultats suivants :

1° La dessiccation prolongée des peaux charbonneuses, même

après les avoir abondamment salées, n'en détruit pas les propriétés infectieuses;

2° L'immersion des peaux desséchées dans l'eau de chaux, telle qu'elle est pratiquée dans les tanneries et leur râclage successif n'en diminue pas la virulence;

3° Le tannage, pratiqué d'habitude par l'immersion dans la bouillie de tannin pendant 40 jours, ne détruit ni n'atténue pas tous les germes contenus dans les peaux et, pour ce motif, le cuir fabriqué avec des peaux charbonneuses peut transmettre le charbon sinon constamment, du moins avec une certaine facilité.

E. F.

Dr Alberte Massone. — **De la présence du bacille de la tuberculose dans le lait du marché de Gênes** (*Annali d'Igiene sperimentale*, VII, p. 239).

L'auteur a examiné le lait vendu à Gênes, au point de vue de la présence du bacille de Koch. Il employait pour cela 70 à 80 centimètres cubes de lait qui étaient d'abord centrifugés pendant 1/4 d'heure. La crème et le dépôt cubant environ 5-6 centimètres cubes étaient recueillis et injectés dans la cavité péritonéale de cobayes. Sur 33 cobayes inoculés (l'auteur en avait inoculé 44, mais 11 animaux morts de péritonite le lendemain ne furent pas portés en compte) 3 contractèrent la tuberculose. Il résulterait de ceci que 9 p. 100 des échantillons de lait prélevés sur le marché de Gênes contiendraient des germes de tuberculose. E. F.

A. Prochaska. — **Les bacilles pseudo-diphtéritiques de la gorge** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXIV, p. 373).

Tous ceux qui ont eu à faire le diagnostic bactériologique de la diphtérie ont souvent rencontré les bacilles dits pseudo-diphtéritiques. Lœffler déjà en avait rencontré, et lui et de nombreux auteurs paraissent admettre qu'il s'agit là d'une variété bien distincte. D'autres expérimentateurs, au contraire (Roux et Yersin), voient dans le bacille pseudo-diphtéritique un bacille diphtéritique ayant seulement perdu sa virulence. Les auteurs qui penchent pour une variété distincte ont indiqué de nombreuses différences morphologiques, mais sont-elles assez précises pour autoriser le bactériologiste à nier la diphtérie quand il rencontre ces formes pseudo-diphtéritiques dans une angine? L'importance de cette question a engagé l'auteur à reprendre cette étude.

Voici ses conclusions :

Sur sérum les bacilles pseudo-diphtéritiques croissent plus

lentement au début ; la couleur de leurs colonies est plus blanche, plus grasse, d'un brillant mat. Leur développement, sur tous les milieux, est plus confluente.

Les cultures sur agar se distinguent par leur abondance ; dans les cultures par piqûre il se forme un disque à la surface ; dans les vieilles cultures l'agar prend une teinte brun rouge.

Sur gélatine également, comme sur agar, les bacilles pseudo-diphtéritiques croissent plus vite et plus abondamment que les vrais bacilles de la diphtérie. A noter que ces derniers croissent aussi dans la gélatine au-dessous de 20 degrés, d'après les expériences de l'auteur.

Dans le bouillon il se produit en peu de temps un trouble diffus très intense, et le fond du tube se remplit d'un dépôt. Le bouillon troublé se clarifie beaucoup plus lentement que lorsqu'il s'agit du bacille diphtéritique. La formation d'une pellicule s'observe plus fréquemment chez le bacille pseudo-diphtéritique. Celui-ci se développe également bien dans le bouillon sucré, ce qui le distingue du bacille diphtéritique qui s'y développe mal.

Le bouillon additionné de teinture de tournesol n'est jamais acidifié.

En ce qui concerne les différences morphologiques, elles sont accentuées surtout sur sérum, où l'on voit surtout des formes courtes, ramassées, tantôt en forme de coins, tantôt fusiformes ; elles sont souvent parallèles. Sur d'autres milieux, ces caractères qui le distinguent du bacille diphtéritique sont moins typiques. Les bacilles pseudo-diphtéritiques se colorent plutôt plus facilement que les bacilles diphtéritiques avec les couleurs d'aniline. Ils sont dénués de virulence à l'égard des animaux.

L'auteur a retrouvé ces caractères distinctifs avec la plus grande régularité chez tous les bacilles pseudo-diphtéritiques qu'il a isolés de 16 cas différents. Il en conclut que c'est un microorganisme parent du bacille diphtéritique, mais qui peut en être nettement différencié par les caractères morphologiques et de culture.

Les bacilles diphtéritiques et pseudo-diphtéritiques étant doués d'un certain pléomorphisme, il ne faut pas, dans un diagnostic différentiel, se borner à un seul signe distinctif ; il faut, au contraire, comme lorsqu'on veut différencier le bacille coli du bacille typhique, tenir compte de tous les caractères distinctifs.

E. F.

D. Max Neisser. — Contribution au diagnostic différentiel de la diphtérie (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XXIV, p. 443).

Le travail de M. Neisser poursuit le même objet que celui de M. Prochaska que nous venons d'analyser, savoir de chercher à

diagnostiquer d'une façon certaine le bacille diphtéritique du bacille pseudo-diphtéritique. Il arrive à la même conclusion que M. Prochaska et pense que malgré leur parenté ces deux microorganismes peuvent être nettement différenciés.

M. Neisser a commencé par étudier 34 cultures diphtéritiques de provenances diverses, pour voir jusqu'à quel point les vrais bacilles diphtéritiques peuvent différer entre eux. L'auteur insiste surtout sur quatre caractères constants :

1° L'*aspect morphologique* bien connu, c'est-à-dire bâtonnets, longs, minces, généralement plus pointus à l'un des bouts ou aux deux, souvent un peu courbes et groupés en paquets caractéristiques (aspect cunéiforme décrit si souvent et que l'auteur compare aux doigts écartés des deux mains placées en travers l'une sur l'autre. Dans les cultures sur sérum de 6 heures, ces caractères s'observent le mieux.

2° *Mode de se comporter à l'égard des solutions colorantes.* — On sait qu'avec le bleu de méthylène surtout certaines parties des bacilles diphtéritiques se colorent avec plus d'intensité ; ce sont les granulations décrites par Ernst et A. Neisser, que l'on rend visibles surtout par de doubles colorations. Ces granulations, toutefois, ne sont pas l'apanage des bacilles diphtéritiques seuls, car plusieurs espèces bactériennes les présentent aussi. Mais, ce qui est caractéristique pour le bacille diphtéritique, c'est que seul le bacille diphtéritique cultivé sur sérum à 34-36 degrés, les présente à un moment où elles ne sont pas visibles chez d'autres microorganismes, savoir quand les cultures sont âgées de 9 à 20 heures. Les préparations se font de la manière suivante :

a. 1 gramme de bleu de méthylène (de Grübler à Leipzig) est dissous dans 20 centimètres cubes d'alcool à 90 degrés ; on ajoute 950 centimètres cubes d'eau distillée et 50 centimètres cubes d'acide acétique glacial.

b. 2 grammes de vésuvine sont dissous dans 1 litre d'eau distillée bouillante ; cette solution doit être filtrée.

Les préparations, faites comme d'habitude, sont plongées pendant 1-3 secondes dans la solution *a*, lavées à l'eau, puis 3-5 secondes dans la solution *b*. Les granulations se colorent en bleu, le reste du bacille en jaune brun.

3° Un autre caractère distinctif du bacille diphtéritique est la *production d'acide* dans le bouillon de viande. Pour neutraliser les cultures il faut en moyenne, après 20-40 heures, quand les tubes sont chargés de 5 centimètres cubes de liquide nutritif, 0,29 centimètre cubes d'une solution à 1 p. 100 de NaOH. On emploie comme indicateur la phénolphtaléine. Les cultures des bacilles pseudo-diphtéritiques ne demandent, en moyenne, que 0,064 centimètres cube de la même solution pour leur neutralisation.

4° *L'action pathogène à l'égard des cobayes.* — D'autre part, l'auteur étudia 22 cultures différentes de bacilles pseudo-diphtéritiques, et rencontra constamment les caractères suivants:

1° Les cultures de 6 heures, sur sérum donnent des bacilles qui se distinguent le mieux des vrais bacilles diphtéritiques. Les bacilles sont courts et leur groupement n'est pas typique. Après 16 et 24 heures, ils se rapprochent davantage du bacille diphtéritique ;

2° Les cultures jeunes, de 16-24 heures, ne donnent pas les granulations visibles à ce moment chez le bacille diphtéritique, ce n'est le cas qu'après quelques jours.

3° L'acidité des cultures est très faible et manque souvent totalement ;

4° Le bacille pseudo-diphtéritique n'est généralement pas pathogène pour le cobaye. S'il arrive qu'un cobaye meure, les symptômes sont tout à fait différents.

E. F.

Dr Achille Capaldi et Prof. B. Proskauer. — **Contribution à la connaissance de la production d'acide par le bacille typhique et le bacterium coli** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten* XXII, p. 452).

Tous ceux qui s'intéressent à la biologie du bacille typhique et du bacille coli liront avec fruit les résultats des nombreuses recherches exécutées par ces auteurs en vue surtout de différencier ces deux microorganismes et d'arriver peut-être à trouver des milieux de culture propices à faciliter la croissance du bacille typhique au détriment du bacille coli qui, on le sait, accompagne presque toujours le premier et prend, en raison de son accommodation plus facile aux terrains de culture artificiels, constamment le pas sur le bacille d'Eberth, ce qui rend l'isolement de ce dernier très difficile. A cet égard, les recherches des auteurs ne les ont pas amenés à un résultat positif, mais, au cours de leurs travaux, ils ont constaté un fait important qui permettra de différencier rapidement le bacille typhique des espèces voisines. Ils ont remarqué en effet que, dans un bouillon de peptone de Witte à 2 p. 100 très légèrement alcalin et additionné de 0,1 p. 100 de mannite, le bacille typhique donne, à 37 degrés, une réaction acide en 20 heures, tandis que, dans les ballons ensemencés avec différents bacilles coli, la réaction est encore légèrement alcaline au bout de ce temps. Il ne faut, toutefois, pas ajouter de doses plus fortes de mannite, car alors le bacille coli produit alors aussi de l'acidité (0,5 p. 100).

E. F.

Dr Eugène Conrad. — **Études bactériologiques et chimiques sur la fermentation de la choucroute** (*Archiv für Hygiene*, XXIX, p. 66).

Il résulte du travail très consciencieux de l'auteur que la fermentation spéciale de la choucroute est provoquée par un microorganisme que ses caractères rapprochent du bacille coli, dont il n'est probablement qu'une variété. Pour l'isoler, il faut employer une choucroute en voie de fermentation. Quand la fermentation est terminée, l'acide produit amène la mort de ce microorganisme. On trouve, en outre, 2 levures, une qui est proche parente du *Saccharomyces cerevisiæ* et une autre qui se rapproche du *S. minor* et dont la présence paraît nécessaire pour que la fermentation donne un bon produit. Pour de plus amples détails, nous renvoyons le lecteur à l'original. Le microorganisme en question a été baptisé *Bacterium brassicæ acidæ* par l'auteur.

E. F.

Volkowitsch. — **Bactériologie de la conjonctive normale** (*Wratsch*, n° 34, 1896).

L'auteur a cherché à déterminer le nombre des différents microbes qu'on peut rencontrer sur une conjonctive normale, à étudier leurs propriétés biologiques, la fréquence et la durée de leur présence dans le sac conjonctival normal ; les voies de pénétration, etc. Dans ce but, il recueillait la sécrétion de la conjonctive normale autant que la chose est possible, la colorait d'après les procédés de Gram et Ziel-Neelsen ; en même temps il l'ensemençait sur la gelatine-peptone en plaques, puis sur la pomme de terre et dans la goutte pendante. Le moment de l'apparition des colonies est loin d'être le même dans tous les cas. En hiver, celles-ci n'apparaissaient souvent qu'après 3 à 4 jours ; en été, au contraire, les colonies apparaissaient bien plus rapidement, presque toujours le deuxième jour. Chez 3 sur les 30 individus examinés, on ne trouva rien ; chez les 27 autres, on trouva 19 variétés de cocci et 13 de bâtonnets, parmi lesquels le staphylocoque doré et albus, le *Micrococcus candicans*, le *Micrococcus aurantiacus*, le *Micrococcus concentricus*, *Micrococcus butyricus*, *Micrococcus flavus liquefaciens*, le *Bacillus subtilis*, le *Bacillus mesentericus vulgaris* et le *Bacillus mesentericus fuscus*, des sarcines et un bacille pseudiphtéritique. On trouva, en outre, dans un cas, un bacille particulier : très petit, immobile, pourvu d'une capsule et donnant des colonies d'un rose laiteux, ne liquéfiant pas la gélatine, poussant faiblement et lentement sur la pomme de terre, très bien sur le bouillon peptone-gélose. Enfin, il y avait aussi des

levures roses, des champignons filiformes et des moisissures. L'auteur formule les conclusions suivantes :

1° Il n'y a pas, quoiqu'on en ait dit, dans le sac conjonctival normal de microbes pyogènes ;

2° Parmi les microorgànismes présents sur la conjonctive, ce sont les cocci qui prédominent ;

3° Les microorganismes s'y trouvent dans la grande majorité des cas (90 p. 100) ;

4° La présence de différentes formes de microbes dans la conjonctive normale se trouve probablement en rapport avec la saison : au printemps, on trouvait presque dans chaque cas le *Bacillus subtilis ;*

5° Dans les examens répétés on rencontra chaque fois une nouvelle forme de microorganismes, ce qui prouve qu'ils ne sont sur la conjonctive qu'accidentellement et qu'ils n'y séjournent pas longtemps. Mme El.

KONDRATIEFF. — **De l'autodéfense de l'organisme contre les infections bactériennes** (*Wratsch*, n° 3, 1897).

Voici d'abord, d'après l'auteur, le meilleur moyen d'obtenir la substance qui défend l'organisme contre les infections bactériennes. Des rates de cheval triturées sont mélangées avec un volume et demi d'eau légèrement alcaline (0,01 p. 100 de soude), et mises dans une glacière pendant 24 heures. La masse est ensuite comprimée, puis diluée dans 5 volumes d'eau et filtrée sur l'ouate, puis on la précipite par un volume double de chlorure de zinc, on lave soigneusement à l'eau, on filtre bien et on dissout le précipité dans de l'eau alcaline (0,10 p. 100 de soude), on fait passer un courant d'acide carbonique jusqu'à formation d'un précipité abondant, qu'on sèche dans du papier à filtre, puis à l'air à la température de la chambre pendant 5 jours. Le précipité ainsi obtenu est trituré avec de l'eau et lavé plusieurs fois, puis de nouveau dissous dans de l'eau alcaline ; on fait passer un courant d'hydrogène sulfuré puis on dialyse à courant continu pendant trois jours. Ceci fait, on verse le liquide dans des tubes qui sont stérilisés trois jours de suite pendant 10 minutes à 55° chaque fois. Les tubes peuvent être conservés à la température de la chambre. En ce qui concerne l'assertion de Freund et Grasz au sujet de l'action de l'hystone et des albumoses ordinaires de la digestion dans l'autodéfense de l'organisme contre la diphtérie et le tétanos, Kodratieff trouve que ces substances n'exercent qu'une action insignifiante. En aucune façon on ne saurait espérer obtenir à l'aide de ces substances les mêmes résultats qu'avec le sérum spécifique.

En outre, ces substances n'ont rien de commun avec celle qu'a obtenue l'auteur ; il propose donc la théorie suivante de l'auto-défense. Il suppose que la toxine bactérienne se combine avec telle ou telle albumine des cellules appartenant soit à tous les organes, soit à quelques-uns comme, par exemple, le foie, le système lymphatique, les capsules surrénales, etc. La même combinaison de l'albumine peut se faire soit avec l'antitoxine spécifique soit avec la substance qui est chargée de la défense de l'organisme à l'état normal, les deux se rapprochant de la toxine par leur composition chimique. Après un certain laps de temps qui correspond à la durée de l'incubation, toutes les combinaisons se décomposent, et les produits de cette décomposition sont, suivant les cas, tantôt toxiques, tantôt inoffensifs.

Pour pouvoir expliquer tous les cas d'infection par le tétanos, il est nécessaire de supposer que la substance de défense et surtout l'antitoxine contenues dans la molécule albuminoïde agissent comme des ferments. Si, dans l'organisme d'un animal sain, dont le protoplasma cellulaire contient toujours une certaine quantité de substance de défense, on vient à introduire une quantité de toxine tétanique trop faible pour déterminer l'infection, cette toxine se combine immédiatement avec le protoplasma cellulaire, en formant une combinaison non toxique. Sous l'influence de la substance de défense, cette combinaison se décompose à la fin de la période d'inoculation, de telle façon que la toxine forme l'antitoxine qui est d'abord versée dans le sang et ensuite éliminée. Si la quantité de virus est plus grande, mais sans être toutefois mortelle, il peut arriver que la substance de défense soit insuffisante pour rendre la réaction inoffensive. Dans ce cas, il sera versé dans le sang, à côté de l'antitoxine, une certaine quantité de toxine qui déterminera la maladie, non mortelle. Enfin, si la dose de virus versée est mortelle, c'est la toxine et non pas l'antitoxine qui sera mise en liberté. Si l'on introduit dans l'économie un antitoxique spécifique, il se combine aussi avec l'albumine du protoplasma et met en liberté soit la toxine, soit l'antitoxine, mais, dans ce cas, la réaction sera beaucoup plus intense qu'avec l'antitoxique naturel, la substance de défense naturelle à laquelle l'auteur donne le nom d'*atoxogène*.

Plus on introduira d'antitoxine, plus on aura neutralisé de toxine combinée à l'albumine ; il est à présumer que les albumines qui prennent part à ces réactions hypothétiques peuvent être dépensées, et que l'animal peut, après cette réaction, se trouver dans un état de beaucoup inférieur, au point de vue de l'auto-défense, à celui d'un animal normal.

Les antitoxines seraient donc des résultats d'une réaction définitivement accomplie dans l'organisme ; on comprend, en outre, comment un animal qui contient une énorme quantité d'antitoxine,

quantité qui serait suffisante pour défendre des dizaines et des centaines d'individus, peut lui-même succomber à la suite de l'introduction d'une quantité insignifiante de toxine. On pourra étendre cette théorie, qui ne concerne, pour le moment, que le tétanos, à la diphtérie et aux autres infections bactériennes, lorsqu'on établira définitivement que « l'atoxogène » peut préserver l'organisme contre d'autres toxines.

Mme El.

Favre. — **Les bactéries des excréments de vache comme source de contamination** (*Wratsch*, n° 40, 1896).

Il y a quelque temps, Flugge a publié un très intéressant travail dans lequel il a montré qu'il existe dans le lait un groupe de microbes particuliers qui jouissent de la propriété de peptoniser la caséine; ce sont ces microbes qui joueraient, d'après l'auteur allemand, un rôle important dans la pathogénie du choléra infantile.

Pour se rendre compte du rôle que jouent les excréments de vache dans la contamination bactérienne du lait en général et pour les microbes peptonisants en particulier, l'auteur a fait les recherches suivantes :

Un gramme d'excréments rigoureusement pesé était mélangé avec 100 ou 200 grammes d'eau; ensuite à l'aide d'une pipette très fine une goutte prise dans un des ballons remplis de ce mélange était ensemencée sur de l'agar en plaques. Après que ces dernières étaient restées au thermostat pendant 17 à 18 heures à la température de 37 degrés, on examinait les cultures aux points de vue quantitatif et qualitatif.

Si les colonies étaient abondantes, si, en outre, elles étaient pour la plupart petites, on employait pour la numération le procédé de Neelsen : au contraire, si l'on pouvait distinguer les colonies à l'œil nu ou bien à la loupe, on avait recours au procédé de Wolffhugel. Enfin, quant au diagnostic bactériologique, on prenait comme base les caractères que présentaient les colonies qui avaient poussé sur la gélatine, l'agar, la pomme de terre, le lait, le bouillon, etc.

Favre a constaté ainsi que, dans les excréments de vache, les microbes peptonisants signalés par Flugge constituaient 1 1/2 p. 100 de la totalité des microorganismes.

Le nombre de formes a été de 7 ; le n° 1 de Flugge est le plus fréquent, fait d'autant plus important à signaler que c'est précisément ce microorganisme qui est le plus nuisible.

En terminant son travail, Favre insiste sur ce point que les excréments de vache doivent être considérés comme une source

très importante de contamination du lait par des bactéries en général et par des microbes peptonisants en particulier.

Il va de soi que cette conclusion a une importance considérable au point de vue pratique; elle prouve qu'il y a nécessité absolue de prendre des précautions de propreté aussi minutieuses que possibles pendant la traite.

Disons encore que la stérilisation du lait est, d'après Favre, à peu près impossible. En effet si même l'on soumet le lait à l'ébullition dans un courant de vapeur pendant 3 jours de suite, 2 heures par jour, on n'arrive pas à une stérilisation absolue. Si, après cette ébullition prolongée et répétée, on laisse le lait à la température de 37 degrés, on constate des modifications caractéristiques au bout de 2 à 3 jours.

Mme El.

ANDRIOUCHTCHENKO. — **De l'action de l'airol sur des bactéries** (*Wratsch*, n° 36, 1896).

Depuis quelques années on a proposé de remplacer l'iodoforme, dont tout le monde est à même de connaître les différents inconvénients, par un autre corps inoffensif, mais de puissance antiseptique au moins égale, l'airol. M. Andriouchtchenko s'est proposé de rechercher si l'airol exerçait une action directe sur les microbes pathogènes et quelle était cette action.

Il fit d'abord dans ce but des expériences sur les cultures du microbe pyocyanique et du *Bacillus prodigiosus*, et, après avoir constaté que l'airol ralentit leur développement, il répéta les mêmes expériences sur des microbes pathogènes cette fois et notamment le bacille du charbon et le *Staphylococcus aureus*.

Il a constaté que, déjà après 15 minutes d'action, l'airol rend le développement des microbes sur la gélatine considérablement plus lent. Au bout de 30 minutes, cette action est bien plus manifeste, car les ensemencements faits avec des cultures sur lesquelles on a fait agir l'airol pendant ce laps de temps ne donnent aucun résultat positif.

En faisant ces expériences avec des cultures développées sur l'agar on a constaté que le maximum d'action de l'airol qui se manifeste, comme pour la gélatine, au bout de 30 minutes, coïncide avec l'apparition de la coloration jaune, autrement, dit au moment de l'élimination la plus énergique d'iode libre.

Andriouchtchenko a fait encore des expériences sur des animaux. Il injectait à des cobayes la culture de staphylocoque, soumise pendant environ 30 minutes à l'action de l'airol, et à des témoins la même culture, mais qui n'avait pas été soumise préalablement à l'action de l'airol.

Le jour suivant, une infiltration se produisait chez tous les animaux, mais, tandis que cette infiltration disparaissait chez les premiers, elle aboutissait à la suppuration chez les témoins.

Ces expériences constituent une preuve expérimentale de l'action antiseptique de l'airol.

Mme El.

Berseneff. — **Bacilles diphtériques ramifiés** (*Wratsch*, n° 41, 1896).

Les fausses membranes dans lesquelles Berseneff a observé les bacilles ramifiés décrits par Balin, Frenkel et d'autres contenaient exclusivement des bâtonnets longs qui remplissaient tout le champ microscopique; ils étaient un peu plus épais que d'ordinaire, rectilignes ou légèrement incurvés. Ils se coloraient le plus souvent d'une façon inégale. On trouvait aussi des bacilles ramifiés; leurs branches latérales (de 1 à 3) présentaient parfois des gonflements ; parfois aussi le bacille avait des ramifications secondaires. Les ensemencements faits avec ces membranes ont donné des cultures pures de bacille de Lœffler. Quelque temps après, Berseneff eut l'occasion d'observer un cas grave de diphtérie ; les ensemencements ont donné dans le bouillon une culture particulièrement abondante. Les bacilles provenant d'une culture âgée de 18 à 22 heures étaient de 3 à 7 fois plus grands que les bacilles de Lœffler ordinaires. On constatait aussi la présence des formes ramifiées géantes. Dans ces dernières on observait des gonflements protoplasmisques latéraux. Les formes ramifiées se rencontraient exclusivement dans la culture de bouillon ; on n'en trouvait ni dans le sérum, ni dans l'agar, ni sur le blanc d'œuf.

La culture dans le bouillon, âgée de 27 heures, tuait les cobayes de 700 grammes en l'espace de 18 à 32 heures, à la dose de 10 centimètres cubes; les animaux présentaient tous les signes de la diphtérie.

Dans les inoculations sous-cutanées et vaginales on ne trouvait pas de bacilles ramifiés ni dans le tissu cellulaire sous-cutané dans le premier cas, ni dans les phagocytes dans le deuxième. Le développement des bacilles ramifiés s'est arrêté au bout de six semaines.

Mme El.

Gabritschewsky. — **La sérothérapie dans la fièvre récurrente** (*Wratsch*, n° 34, 1896).

Après avoir exposé les théories émises par différents auteurs au sujet de la pathogénie de la guérison dans la fièvre récurrente,

Gabritschewsky s'arrête sur des faits bien établis. Le sang des malades qui ont supporté une attaque de fièvre récurrente possède la propriété de tuer les spirochètes ; pour s'en convaincre, il suffit d'ajouter un peu de sang d'individus guéris à du sang contenant les microorganismes en question. Ces derniers succombent en effet très rapidement, tandis qu'ils continuent à vivre, si l'on répète l'expérience mais en ajoutant du sang d'individus n'ayant jamais subi une attaque de fièvre récurrente. Cette propriété microbicide apparaît dans le sang au moment de l'attaque, augmente progressivement, et commence à diminuer après les premiers jours d'apyrexie. Après la guérison, la propriété microbicide du sang peut se conserver des mois et peut-être des années. Variant avec différentes conditions physiologiques et pathologiques, elle est plus prononcée à la température de 37 degrés qu'à la température de la chambre. Étant donné que la propriété bactéricide du sang augmente progressivement comme nous l'avons déjà dit, il est évident que la vitalité des spirochètes diminue de plus en plus au fur et à mesure qu'on s'approche de la fin de l'attaque ; il en résulte en outre que l'infection ne peut se développer que lorsque le sang de l'individu atteint est privé des propriétés bactéricides. Les substances particulières qui s'accumulent dans le sang pendant l'évolution de l'infection diminuent la vitalité des spirochètes, et les phagocytes leur donnent le coup de grâce. C'est précisément par l'augmentation de la propriété bactéricide qu'on doit expliquer le fait démontré par des observations cliniques, à savoir que les intervalles apyrétiques deviennent plus longs, tandis qu'au contraire les attaques se font moins courtes.

Si l'on prend comme coefficient de la propriété bactéricide le rapport entre la survie du spirochète dans le sang normal et celle du spirochète dans le sang ou le sérum à examiner, on obtient alors les chiffres suivants :

Coefficient chez l'homme sain n'ayant pas supporté une attaque de fièvre récurrente	0,9
Pendant l'attaque	1,4
Pendant la crise	90
Le coefficient tombe ensuite à	68
Après 20 mois	2,5
Après 3 ans	6

L'examen du sang des animaux infectés donne les mêmes résultats. Chez un singe, ce coefficient était égal, avant l'inoculation, à 1 ; immédiatement après la crise, à 2 (à la température de chambre) 48 (au thermostat). Les jours suivants, il commença à tomber ; 10 jours après l'infection : 1,8 à 19 et 12 à 37 degrés. Après de nouvelles inoculations de sang contenant des spirochètes, il ne s'est pas produit de nouvelles infections, tandis que le coeffi-

cient de la propriété bactéricide s'est élevé à 16 à la température de 37 degrés. Pour obtenir la guérison d'une infection déjà existante, il faut un coefficient de 70-90 degrés; pour prévenir l'infection, il doit être de 1,5 à 14 degrés et de 7 à 37 degrés.

En se basant sur tous ces faits, Gabritschewsky fit des essais de traitement des singes atteints de fièvre récurrente avec du sérum des singes préalablement atteints de cette maladie. Les résultats obtenus sont on ne peut plus encourageants. On infecta deux singes. Au moment où l'on constata la présence de spirochètes dans leur sang, on injecta à l'un d'eux par deux fois de ce sérum dont le coefficient était de 16 à 37 degrés. 24 heures après la première infection et 12 heures après la deuxième survint la crise. Chez l'autre singe-témoin, la fièvre persista pendant 3 jours. Chez le singe traité le nombre de spirochètesfut, par préparation, de 12 et chez le témoin de 35 à 40. Au bout de 11 jours, l'attaque se répéta chez le témoin après une saignée, tandis que le singe traité resta bien portant.

Gabritschewsky termine son très intéressant travail en disant qu'on peut considérer comme démontrés les deux faits suivants: 1° l'accumulation dans le sang d'individus atteints de fièvre récurrente des substances qui jouissent de la propriété de tuer les spirochètes ; 2° la possibilité de préparer le sérum jouissant de ces propriétés bactéricides.

Mme El.

Rappoport. — **Sérum streptococcique dans la scarlatine** (*Wratsch*, n° 40, 1896).

L'auteur a fait ses recherches avec le sérum streptococcique préparé à l'Institut de Médecine expérimentale à Saint-Pétersbourg qui est deux fois moins énergique que celui de Marmorek.

Il n'a jamais observé aucun accident. Dans 4 cas où la maladie était de gravité moyenne, le sérum n'a pu que s'opposer à la propagation de l'inflammation de l'arrière-gorge. Dans 2 autres cas, où il s'agissait au contraire d'une intoxication scarlatineuse très profonde, le sérum n'a exercé aucune action favorable et les 2 malades ont succombé. Enfin, dans les 10 autres cas, le sérum était employé pour parer aux complications : 6 malades ont succombé. On n'a jamais réussi soit à prévenir les complications, soit à rendre plus favorable l'évolution de la maladie, ce sérum n'a exercé non plus aucune action sur la marche de la température.

Mme El.

A. Maxoutoff. — **Essai d'immunisation contre la tuberculose à l'aide de la toxine tuberculeuse** (*Wratsch*, 1896, n° 51).

Dans ses travaux antérieurs, l'auteur avait émis l'hypothèse que probablement pas tous les microbes pathogènes élaborant des toxines dans le corps animal peuvent en fabriquer également *in vitro ;* il a, en outre, démontré que les moindres modifications de la composition du milieu des cultures peuvent suffire pour accroître ou diminuer singulièrement la production de ces toxines.

En poursuivant les mêmes études, Maxoutoff est arrivé à cette conclusion qu'on ne doit pas considérer comme toxine spécifique, pour le microbe donné, tout produit toxique qui se forme, pendant le développement de la culture, aux dépens des parties constituantes du milieu. En se plaçant à ce point de vue, l'auteur conclut que la tuberculine est un produit artificiel nullement identique à la toxine fabriquée par le bacille tuberculeux au sein des tissus organisés. Pour obtenir la vraie toxine, il faut ou bien mettre le bacille dans un milieu approprié ou bien extraire cette toxine de l'organisme où elle s'est formée.

C'est ce que l'auteur a réussi à obtenir de l'organisme de cobayes tuberculeux, et il a pu immuniser des cobayes contre la tuberculose à l'aide de cette toxine. L'injection de cette substance, absolument dépourvue de bacilles, provoque des adénopathies et, avec des doses élevées, la dégénérescence caséeuse.

En augmentant graduellement les doses, l'auteur est arrivé à immuniser des cobayes complètement en 3-3 1/2 mois à tel point qu'ils pouvaient supporter, sans aucune conséquence fâcheuse, les inoculations sous-cutanées et intrapéritonéales de cultures pathogènes ou de fragments de tubercules, tandis que ces mêmes inoculations amenaient la mort des animaux témoins.

Mme El.

Biernacki (de Varsovie). — **Examen du sang chez les cholériques** (Tirage à part du *Deutsch. Med. Woch.*, 1896).

Dans ses recherches, l'auteur avait toujours soin de faire l'examen du sang 4-8 heures après les injections du camphre, lorsque l'action de ces dernières sur la leucocytose était complètement terminée. Il résulte des 58 examens de sang faits chez 38 malades, que chez les cholériques il y a augmentation peu marquée du nombre d'hématies (6-7 1/2 mil.) et une augmentation très marquée du nombre de leucocytes (20-40-60 mille par millimètre-cube). Cette hyperleucocytose débutait parfois déjà 12 heures après le début de la maladie et persistait pendant 3-6 jours; l'aug-

mentation portait surtout sur les neutrophyles polynucléaires, tandis que les éosinophyles faisaient défaut.

Si tous les cas à hyperleucocytose grave se terminaient fatalement par la mort, la réciproque n'était pas vraie, et il y avait des malades à la période algide chez lesquels le nombre de leucocytes ne dépassait pas celui des malades ayant guéri.

Avant la guérison, le nombre de leucocytes diminue très rapidement, sauf lorsque l'urémie vient compliquer la maladie principale.

S'il faut juger du degré d'épaississement du sang d'après l'augmentation du nombre d'hématies, cet épaississement est, pour Biernacki, loin d'avoir l'importance qu'on lui attribue, puisqu'il n'est pas toujours proportionnel à la gravité du cas. La déshydratation n'est pas démontrée non plus, puisque la quantité de résidus secs est, d'après Biernacki, de 22,5-23,2 grammes par 100 grammes de sang, et non pas de 17,54, comme le prétend C. Schmidt.

Mme EL.

Prof. OUCHINSKY. — **Modifications de la culture du bacille Klebs-Lœffler dans un milieu dépourvu d'albumine** (*Soc. Médic. russe de la Faculté de Méd. de Varsovie*, 5 octobre 1896).

Plusieurs auteurs ont prétendu que le milieu analbuminoïde proposé par le professeur Ouchinsky en 1892, ne peut pas être employé pour la culture du bacille de la diphtérie et, en effet, ces cultures sont parfois assez difficiles à obtenir. La cause en est peut-être à ce qu'on a tort dans ce cas de se servir pour les ensemencements de jeunes cultures n'ayant pas encore l'habitude de la vie des saprophytes. Quoi qu'il en soit, l'auteur du procédé a récemment présenté des préparations de cultures du bacille diphtérique faites dans le milieu en question, et un cobaye inoculé avec ses cultures et chez lequel on constatait déjà, au bout de 24 heures, l'œdème caractéristique ; d'autres cobayes ont succombé 36-40 heures après l'injection de 3 centimètres cubes de la culture en question. Il semble donc être bien démontré que le bacille de Klebs-Lœffler peut vivre et se développer dans un milieu analbuminoïde et, de plus, qu'il peut y fabriquer des toxines, ce qui est surtout intéressant pour la résolution de la question de l'origine des toxines microbiennes et de la nature chimique de ces dernières.

Mme EL.

Diagnostics effectués par le Laboratoire de Bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois de juin 1897.

Le nombre total des diagnostics réclamés au Laboratoire de Bactériologie en juin 1897 s'est élevé à 198.

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES M.	F.	T.	ANGINES NON DIPHTÉRIQUES M.	F.	T.	TOTAUX DES DIAGNOSTICS
De 0 à 2 ans......	1	2	3	11	5	16	19
De 2 à 5 ans......	7	7	14	15	16	31	45
De 5 à 10 ans......	3	4	7	15	15	30	37
De 10 à 15 ans......	»	2	2	8	9	17	19
De 15 à 30 ans	»	»	»	5	12	17	17
De 30 à 60 ans......	»	»	»	3	4	7	7
De 60 et au dessus . .	»	»	»	»	»	»	»
Age et sexe inconnus.	»	»	1	»	»	4	5
Totaux.........	11	15	27	57	61	122	149

Total des diagnostics.....................	149
Angines diphtériques.....................	27
Angines non diphtériques..................	122
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	18,1 p. 100

Pendant le mois de juin de l'année 1897, il a été effectué 149 diagnostics d'angines douteuses, où l'analyse microscopique a décelé 27 fois le bacille de Loeffler, ce qui porte à 18,1 0/0 la proportion des angines diphtériques observées pendant ce mois. Ce chiffre diffère peu de celui (17,4) qu'on avait obtenu au mois de mai dernier. Les décès par diphtérie vont sans cesse en diminuant ; en juin 1896, on en comptait 30 ; en juin 1897, on n'en a observé que 13, et le chiffre des déclarations de diphtérie, croup et angines couenneuses signalées à la préfecture de Police en juin 1897, pour Paris et la banlieue, ne s'est élevé qu'à 245.

Tuberculose

Sur les 49 diagnostics effectués en dehors des angines douteuses, 38 ont été relatifs à des produits soupçonnés tuberculeux, dans lesquels le bacille de Koch a été rencontré 14 fois.

BIBLIOGRAPHIE

Le Dantec (Félix). — **La forme spécifique.** *Types d'êtres unicellulaires* (*Encyclopédie scientifique des Aide-Mémoire*). Petit in-8, Masson et Cie, éditeurs, boulevard Saint-Germain, 120, à Paris).

Dans un volume précédemment paru de la même Encyclopédie, la *Bactéridie charbonneuse*, l'auteur a étudié, à propos d'une espèce déterminée de plastides, les trois lois les plus générales de la biologie des êtres simples : assimilation, variation, sélection. Mais le type de plastide choisi dans ce précédent volume ne permettait pas d'étudier le rôle des différentes parties constitutives de l'être au cours de la vie élémentaire manifestée ; il ne se prêtait guère non plus à l'étude de l'évolution individuelle. Ces deux questions font l'objet du présent aide-mémoire, qui forme, avec la *Bactéridie charbonneuse*, des éléments complets de Protobiologie.

Parmi les types choisis et successivement décrits, les premiers, *Amibe*, *Paramécie*, permettent d'établir le rapport de la forme spécifique à la composition chimique du protoplasma à l'état de vie élémentaire manifestée. Le noyau est nécessaire à la réaction véritablement vitale, l'assimilation, dont la cicatrisation et la régénération ne sont que des conséquences immédiates.

Les types suivants, choisis dans l'intéressant groupe des Sporozoaires, montrent quel rôle il faut attribuer, dans l'évolution individuelle, aux produits *accessoires* des réactions assimilatrices.

Enfin cette étude mène naturellement à celle des animaux supérieurs, pour lesquels l'auteur a établi la loi d'*assimilation fonctionnelle*, contraire à celle que Claude Bernard considérait comme fondamentale chez tous les êtres vivants. Cette loi, étudiée ailleurs, est rapidement exposée par l'auteur, qui la défend contre quelques attaques récentes.

Dans tout cet ouvrage, comme dans la *Bactéridie charbonneuse*, la méthode d'exposition est exclusivement chimique, et c'est principalement par ce caractère que se distinguent ces éléments de Protobiologie.

PUBLICATIONS RÉCENTES

Eduardo Germano. — Die Uebertragung von Infectionskrankheiten durch die Luft. La transmission des maladies infectieuses par l'air (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXIV, p. 403).

Thorvald Madsen. — Ueber Messung der Stärke des antidiphterischen Serums. Des manières de mesurer la force du sérum antidiphtéritique (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XXIX, p. 425).

Hermann Buchholtz. —Ueber menschenpathogene Streptothrix. Sur des streptothrix pathogènes pour l'homme (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XXIV, p. 470).

O. Foerster. — Quantitative Untersuchungen über die agglutinirende u. baktericide Wirkung des Blutserums von Thyphuskranken und Reconvalescenten. Recherches quantitatives sur l'action agglutinante et bactéricide du sérum de sang chez les personnes malades du typhus ou en voie de convalescence (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XXIV, p. 500).

M. Kirchner. — Ueber den Keimgehalt animaler Lymphe. Sur la teneur en germes de la lymphe animale (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XXIV, p. 530).

Dr Olav Johan-Olsen. — Zur Pleomorphismusfrage. Contribution à la question du pléomorphisme (*Centralblatt für Bakteriologie*, 2e section, III, p. 273).

L'Éditeur-Gérant: C. NAUD.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

CONTRIBUTION
A LA
CONNAISSANCE DE L'ACTION DE LA PRÉSURE

PAR

Ed. de FREUDENREICH (1)

Dans la pratique de l'industrie fromagère, on n'a guère à tenir compte de l'enrichissement du lait en bactéries amené par l'emploi d'une bonne présure artificielle (tablettes et extraits de présure du commerce) (2), car l'augmentation du chiffre des bactéries du lait survenant de ce fait est insignifiante, lorsqu'on la compare au grand nombre de microbes toujours présents dans le lait. Ainsi Baumann (3) a calculé qu'un germe de cette présure correspondait à 2.000 germes contenus dans le lait. De mon côté (4), j'ai trouvé, dans les tablettes de Hansen, des chiffres relativement peu élevés de bactéries, 6.100-40.000 environ par tablette. Une tablette suffisant pour faire cailler 50 litres de lait qui contiennent au minimum 5 milliards

(1) Ce travail vient de paraître en allemand dans le t. XI du *Landw. Iahrbuch der Schweiz.*

(2) Nous ne parlons pas ici de la présure naturelle, telle qu'on l'emploie dans les fromageries suisses (caillettes de veau préparées avec du petit-lait acidifié); celle-ci est, au contraire, très riche en bactéries qui se développent pendant l'acidification et qui paraissent être très importantes pour la maturation subséquente du fromage, ainsi que le démontre un travail récemment publié par M. Orla Jensen et moi.

(3) Beiträge zür Erforschung der Käsereifung, Merseburg, 1893, Thèse.

(4) *Landw. Iahrbuch der Schweiz*, 1871, p. 16.

de bactéries, et généralement beaucoup plus (pris sur le marché, le lait contient généralement beaucoup plus de 100.000 bactéries par centimètre cube), on voit que les microbes importés par la présure artificielle ne constituent qu'un apport insignifiant.

Il en est autrement, toutefois, lorsqu'on procède à des expériences de laboratoire dans lesquelles on cherche à étudier l'action sur la maturation du fromage de certaines espèces bactériennes que l'on ensemence dans le lait; dans ce cas, en effet, il n'est pas indifférent d'employer une présure stérile ou bien riche en bactéries, dont les effets pourraient voiler ou modifier l'action des bactéries ensemencées. Or, il est difficile de préparer, dans le commerce, une présure stérile. On pourrait essayer, par des lavages répétés, de débarrasser les caillettes de veau des microbes qui y adhèrent, et de préparer les tablettes ou extraits d'une manière aseptique; je doute fort cependant que cela soit praticable, et il me semble plus pratique de chercher à stériliser la présure après sa préparation. Dans le travail précité, j'ai déjà dit que ce but pouvait être atteint par la filtration à travers la bougie Chamberland. Baumann a cherché plus tard à arriver au même résultat, au moyen de la stérilisation fractionnée, en soumettant 7 jours de suite sa solution de présure pendant 4 h. 1/2 à une température de 58°,5. Il a pu, par cela, abaisser notablement le chiffre des bactéries contenu dans les solutions, et quelquefois même ce chiffre tomba à 0. Mais, tous ceux qui ont employé la stérilisation fractionnée savent combien ce moyen est peu sûr, et combien la stérilité qu'il procure est souvent plus apparente que réelle. Pour ma part, je ne doute pas que si M. Baumann avait examiné ses solutions quelques jours plus tard, il aurait pu constater qu'elles s'étaient repeuplées de bactéries. Ce procédé enlève aussi une partie de l'action de la présure; dans les expériences de M. Baumann, elle avait diminué d'environ 43,5 p. 100. Cet inconvénient se retrouve, du reste, ainsi que nous le verrons, également dans les autres procédés de stérilisation.

Ayant fréquemment éprouvé le besoin, dans mes expériences, d'avoir à ma disposition une présure stérile, il m'a paru intéressant d'entreprendre quelques recherches à ce

sujet. J'expérimentai, à cet effet, l'action de quelques substances bactéricides, et je renouvelai en même temps mes précédentes expériences sur la filtration.

De plus, je profitai de la même occasion pour rechercher dans quelle mesure le lait perd la propriété de se coaguler sous l'action de la présure quand on le chauffe. Ce point n'est pas sans importance pour l'industrie fromagère, pour le cas où il paraîtrait utile, peut-être, de pasteuriser le lait avant d'en faire du fromage afin de détruire les bactéries nuisibles, tandis que celles utiles à la maturation pourraient y être ensemencées après la pasteurisation.

Dès l'abord, il fallait exclure toutes les substances qui, par leurs propriétés dangereuses ou à cause de leur odeur, comme le sublimé ou l'acide carbolique, le lysol, ne pouvaient pas servir à mon but.

Je me bornai, par conséquent, en fait d'antiseptiques, au chloroforme, au thymol, à la formaldéhyde, au bichromate de potasse, celui-ci parce que je pensai que de très petites doses tout à fait inoffensives pourraient donner un résultat utile, et à la glycérine. Dans toutes ces expériences, je me suis servi des tablettes de présure de Hansen n° 2.

A. — *Substances antiseptiques.*

1. *Chloroforme.* — J'ai pensé à cette substance parce qu'on l'emploie souvent pour tuer les cultures bactériennes. Dans ses expériences sur la désinfection des poussières, Miquel (1) a aussi constaté la puissance bactéricide des vapeurs de chloroforme qui tuèrent 99,8 p. 100 des bactéries des poussières. Les expériences furent faites en partie avec de l'eau de chloroforme, en partie avec les vapeurs de chloroforme et du chloroforme pur. J'examinai chaque fois non seulement la stérilité, mais aussi la force de la présure soumise à ce traitement bactéricide, attendu qu'un moyen de stérilisation qui affaiblirait trop la présure ne pourrait pas être employé.

a) *Vapeurs de chloroforme.* — Une tablette de pré-

(1) *Annales de Micrographie*, VI, p. 621.

sure est pulvérisée et exposée pendant 12 heures à l'action de vapeurs de chloroforme sous une cloche de verre. La poudre est alors introduite dans un ballon contenant 5 centimètres cubes d'eau stérile, et quelques gouttes du mélange sont ensemencées dans du bouillon et dans des plaques de gélatine. Le bouillon se troubla et les plaques se couvrirent de colonies. La force de la présure, au contraire, n'avait pas diminué.

b) *Chloroforme pur*. — Dans une première expérience une tablette fut diluée dans du chloroforme pur dans une bouteille bien bouchée, et, après 24 heures, le bouchon de verre fut remplacé par un tampon de ouate stérilisé; après évaporation du chloroforme à 30 degrés, un peu de la poudre sèche fut introduite dans du bouillon stérilisé; celui-ci se troubla en peu de temps. La force de la présure n'avait pas diminué. Après un contact de 5 et même de 69 jours, le résultat fut le même, c'est-à-dire les tablettes n'avaient pas perdu leur force, mais elles n'étaient pas stérilisées.

c) *Eau chloroformée* (eau avec 2 p. 100 de chloroforme). — Une tablette dissoute dans ce mélange parut avoir perdu sa force; quant à sa stérilité, une goutte du mélange ne troubla pas le bouillon, mais il n'est pas certain que la solution était entièrement stérile; étant donné la pauvreté relative en germes de ces tablettes, il est possible que la goutte à ensemencer n'ait pas contenu de bactéries.

Bichromate de potasse

J'ai fait quelques essais avec cette substance employée comme moyen de conservation dans certaines analyses chimiques. Cette substance est toxique, mais je voulais voir si un résultat pourrait être obtenu avec des doses inoffensives. D'après Pander, la dose toxique serait de 30 milligrammes *pro die*. O. Kappeler (1), par contre, a vu, dans ses expériences, un chien de taille moyenne

(1) *Untersuchung über die Wirkung von Kaliumbichromat im Organismus.* Thèse, Berne, K. I. Wyss.

prendre 0,1-0,6 gramme pendant plusieurs jours de suite, sans inconvénient. La dose de 0,7 gramme provoqua des vomissements.

Une tablette fut diluée dans 100 centimètres cubes d'eau contenant 0,005 gramme de bichromate de potasse. Après 48 heures, la solution n'était pas stérile, et la force de la présure avait notablement diminué, car 1 goutte du mélange n'amena pas de coagulation dans 10 centimètres cubes de lait. Pour obtenir cet effet, il fallut 1 centimètre cube, encore le résultat ne fut-il pas positif dans chaque cas.

Thymol

Dans une première expérience, 100 centimètres cubes d'eau dans laquelle on avait fait dissoudre 1 tablette furent additionnés de 0,05, 1 et 2 p. 100 de thymol (en solution alcoolique). Après 1 heure, une goutte de chacun de ces trois mélanges fut inoculée dans du bouillon. Les solutions à 0,05 et à 1 p. 100 fécondèrent ce dernier ; celle à 2 p. 100 était stérile. Mais la force de la présure avait aussi beaucoup diminué, car 10 et 1 goutte de cette solution, ajoutées à 10 centimètres cubes de lait, n'amenèrent pas sa coagulation, même après 5 heures, tandis que, dans les expériences de contrôle, 1 goutte de la solution d'une tablette dans 100 centimètres cubes d'eau faisait coaguler 10 centimètres cubes de lait en une minute.

Dans une autre expérience, la tablette de présure fut dissoute dans de l'eau saturée de thymol. Après 18 heures, le mélange se montra stérile, mais la présure avait perdu toute sa force.

Salol

Le salol n'étant pas soluble dans l'eau, j'employai une solution alcoolique (2 grammes de salol dans 50 grammes d'alcool), dont on ajouta jusqu'à saturation à 500 centimètres cubes d'eau dans lesquels on avait fait fondre une tablette (jusqu'à ce que l'eau commençât à se troubler).

Après 1, 2 et 3 jours, on n'avait pas encore obtenu la stérilité du mélange. La force de la présure avait également diminué, ce que j'attribuai plutôt à la putréfaction du mélange qu'à l'action du salol, car de suite après la préparation du mélange, la présure semblait avoir encore toute sa force.

En présence de ce résultat peu encourageant, j'abandonnai le salol.

Glycérine

J'essayai la glycérine, parce qu'elle semble douée de propriétés bactéricides ; on sait, en effet, que la vaccine conservée dans de la glycérine devient souvent stérile après quelques semaines. Dans mes expériences, toutefois, une tablette dissoute dans de la glycérine pure ne se montra pas stérile après 4 et 10 jours, ni même après 62 jours. La force de la présure n'avait, au contraire, subi aucune atteinte.

Aldéhyde formique

L'aldhéhyde formique est douée, ainsi que l'ont démontré des expériences récentes, d'un pouvoir bactéricide très considérable, non seulement en solution, mais aussi à l'état gazeux. Ainsi, Miquel a pu tuer des spores charbonneuses par les vapeurs de 5 centimètres cubes d'une solution d'aldéhyde formique à 1 p. 100 et même 5 ou 2,5 p. 100, sous une cloche de verre de 8 litres de capacité, en 1 à 3 jours.

J'employai la formaldéhyde sous forme de formaline qui en contient 40 p. 100.

J'essayai d'abord les vapeurs de cette substance. Une tablette réduite en poudre fut placée sous une cloche, dans laquelle se trouvaient 10 centimètres cubes de formaline dans une petite soucoupe. Après 18 heures, la poudre se montra stérile, mais elle était toute mouillée, et la présure avait perdu sa force. Diluée dans 5 centimètres cubes d'eau, 2 gouttes n'amenèrent, en effet, pas

même après 4 heures, la coagulation de 10 centimètres cubes de lait qui se caillent en moins d'une minute avec 2 goutes du mélange d'une tablette avec 5 centimètres cubes d'eau ordinaire.

Une seconde expérience donna le même résultat.

Dans une troisième expérience, la tablette fut d'abord dissoute dans un peu d'eau et exposée en couche mince aux vapeurs de formaline. Après 18 heures, une goutte du mélange ne troubla pas le bouillon; mais comme, ainsi que l'expérience de contrôle le montra, la solution de présure était déjà tellement imprégnée de formaline qu'une goutte du mélange suffisait pour rendre un ballon de bouillon de 10 centimètres cubes impropre à la culture des bactéries, il est resté incertain s'il y a eu une vraie stérilisation ou seulement empêchement de croissance dans le bouillon ensemencé. La force de la présure, au contraire, n'avait pas été détruite.

Dans une quatrième expérience, je me servis des vapeurs d'une solution de formaline à 2,5 p. 100, équivalant donc à 1 p. 100 de formaldéhyde. Après 48 heures, la poudre était aussi tout à fait mouillée; de petites quantités de cette poudre, ensemencées dans du bouillon, ne le troublèrent pas, mais la présure avait complètement perdu ses propriétés coagulantes.

Je fis alors des expériences avec des solutions aqueuses de formaldéhyde, dans lesquelles on faisait dissoudre les tablettes de présure.

Dans une expérience préliminaire, une tablette fut dissoute dans de la formaline pure et dans des solutions à 5 et 1 p. 100. Après 20 heures, ces trois mélanges étaient stériles; mais la présure dissoute dans la formaline pure avait perdu toute son action; les solutions à 1 et 5 p. 100, au contraire, étaient encore actives.

Dans les expériences suivantes, je n'employai que la solution à 1 p. 100 et des solutions plus faibles encore et j'en déterminai plus exactement la force.

Expérience I

Une tablette est dissoute dans 100 centimètres cubes d'eau avec 1 p. 100 de formaline. Après 18 heures, une goutte du mélange, ensemencée dans 200 centimètres cubes de bouillon, ne le trouble pas. A titre de contrôle, un second ballon de bouillon de 200 centimètres cubes reçoit également une goutte du mélange et est ensuite ensemencée avec de la présure non stérilisée ; le ballon se trouble, ce qui montre que la faible quantité de formaline apportée dans le bouillon avec la goutte que l'on y ensemence ne constitue pas un empêchement pour le développement des bactéries.

Le tableau suivant indique la force de la présure ainsi traitée :

10 cmc. de lait	+ 10 gouttes :	caillés en	20 minutes
— —	+ 1 —	—	1 heure 1/4
— —	+ 1/10 —	—	4 heures

A titre de contrôle, j'employai une solution de présure de 1 tablette dans 100 centimètres cubes d'eau non additionnée de formaline :

10 cmc. de lait	+ 10 gouttes :	caillées en	5 minutes
—	+ 1 —	—	15 —
—	+ 1/10 —	—	30 —

Après 48 heures, la présure traitée à la formaline donna les résultats suivants :

10 cmc. de lait	+ 10 gouttes :	caillés en 20 minutes
—	+ 1 —	— 1 heure 1/4
—	+ 1/10 —	pas caillés après 4 heures

Après 6 jours :

10 cmc. de lait	+ 10 gouttes :	caillés après 3 heures, mais pas encore après 1 h. 1/4.
—	+ 1 —	pas caillés après 4 heures

Cette expérience montre que la formaline à 1. p. 100 ne détruit pas la force de la présure, mais qu'elle la réduit cependant à 1/4 ou 1/5. Un contact de plus de deux jours de durée augmente encore notablement cet affaiblissement.

Expérience II

On se sert comme contrôle d'une solution de une tablette dans 500 centimètres cubes d'eau. Une seconde tablette est dissoute

également dans 500 centimètres cubes d'eau, mais avec addition de 1 p. 100 de formaline.

Présure de contrôle :

10 cmc. de lait	+ 1	cmc. de la solution de présure :	caillés en	4 min.
—	+ 1/4	— —	—	10
—	+ 1/20	— —	—	45

Présure avec formaline, employée fraîche :

10 cmc. de lait	+ 1	cmc. de la solution :	caillés en	7-8 minutes
—	+ 1/4	—	—	14 —

Même présure, après 24 heures :

10 cmc. de lait	+ 1	cmc. de la solution :	caillés en	7-8 minutes
—	+ 1/4	—	—	17-18 —
—	+ 1/20	—	pas caillés après	1 h. 1/2

Même présure, après 5 jours :

10 cmc. de lait	+ 1	cmc. de la solution :	caillés en	9 minutes
—	+ 1/4	—	—	20 —
—	+ 1/20	—	—	2 heures

Même présure, après 6 jours :

10 cmc. de lait	+ 1	cmc. de la solution :	caillés en	9 minutes
—	+ 1/4	—	—	23 —

Même présure, après 7 jours :

10 cmc. de lait	+ 1	cmc. de la solution :	caillés en	10 minutes
—	+ 1/4	—	—	29 —

Chaque fois, on faisait naturellement une expérience de contrôle, attendu que les retards notés auraient pu tenir à une différence dans les laits employés chaque fois; mais, le résultat fut pareil à celui de l'expérience de contrôle relatée plus haut; il m'a donc paru inutile de les transcrire ici.

Dans cette expérience, la formaline n'avait donc enlevé à la présure qu'environ la moitié de sa force; dans la suite cet affaiblissement augmenta un peu.

Expérience III

Cette expérience fut faite avec une solution de formaline à 0,5 p. 100 (une tablette dans 497,5 centimètres cubes d'eau) avec 2,5 centimètres cubes de formaline.

Expérience de contrôle (une tablette dans 500 centimètres cubes d'eau) :

10 cmc. de lait	+ 1 cmc. de présure :	caillés en	4 minutes
—	+ 1/4	—	11-12 —
—	+ 1/20	—	30 —

Présure avec formaline (0,5 p. 100), âgée de 4 jours. La solution était stérile.

10 cmc. de lait	+ 1 cmc. de la solution :	caillés en	6 1/2	minutes
—	+ 1/4	—	— 17	—
—	+ 1/20	—	— 1 h. 20	

De suite après sa préparation, cette solution s'était montrée sensiblement de la même force. Un contact de 4 jours ne l'avait donc pas affaiblie.

Expérience IV

Présure avec formaline (0,5 p. 100) âgée de 24 heures, stérile :

10 cmc. de lait	+ 1 cmc. de la solution :	caillés en	5 min.
—	+ 1/4 —	—	15
—	+ 1/20 —	—	65

Même présure, après 48 heures :

10 cmc. de lait	+ 1 cmc. de la solution :	caillés en	5 minutes
—	+ 1/4 —		12-13 —
—	+ 1/20 —		60 —

Même présure, après 3 jours :

10 cmc. de lait	+ 1 cmc. de la solution :	caillés en	6-7 minutes
—	+ 1/4 —	—	16 —
—	+ 1/20 —	—	2 h. 1/2

Même présure, après 5 jours :

10 cmc. de lait	+ 1 cmc. de la solution :	caillés en	7 minutes
—	+ 1/4 —	—	16 —
—	+ 1/20 —	—	1 h. 22

Même présure, après 7 jours :

10 cmc. de lait	+ 1 cmc. de la solution :	caillés en	6 minutes
—	+ 1/4 —	—	16 —
—	+ 1/20 —	—	1 h. 03

Même présure, après 10 jours :

10 cmc. de lait	+ 1 cmc.	de la solution :	caillés en	7-8 minutes
—	+ 1/4	—	—	20 —
—	+ 1/20	—	—	1 h. 20

Dans toutes les expériences de contrôle, le temps nécessaire à la coagulation fut d'environ 5 minutes pour 1 centimètre cube, de 10 minutes environ pour 1/4 de centimètre cube et de 40-60 minutes pour 1/20 de centimètre cube.

Dans cette expérience, on voit la force de la présure diminuer progressivement, cependant, après 10 jours, elle n'avait perdu qu'environ la moitié de son action. Une expérience faite avec la même présure, après 69 jours, donna encore le même résultat.

Pour être sûr de la stérilité, je diluai encore 2 tablettes dans 20 centimètres cubes d'eau avec 0,5 p. 100 de formaline; une goutte du mélange ensemencée de suite dans du bouillon le troubla; après 48 et 72 heures, par contre, les bouillons ensemencés avec une goutte restèrent stériles.

De toutes les substances employées, la formaline seule en solution aqueuse à 0,5 ou 1 p. 100 se montrerait capable de stériliser la présure, sans trop diminuer sa force.

Je crois cependant la filtration à la bougie Chamberland préférable, vu qu'il n'est fait aucune adjonction au lait. La filtration diminue aussi, il est vrai, ainsi que nous allons le voir, la force de la présure, mais, en employant des solutions très concentrées, on peut obvier à cet inconvénient.

Les expériences suivantes montrent l'action de la filtration sur la force de la présure :

1° Une tablette est dissoute dans 500 centimètres cubes d'eau, puis filtrée :

10 cmc. de lait	+ 2 cmc.	de la solution :	caillés en	1 heure
—	+ 1	—	—	3 h. 35
—	+ 1/4	—	—	5 h. 50

Contrôle : Une tablette dans 500 centimètres cubes d'eau :
10 cmc. de lait + 2 cmc. de présure : caillés en 2,5 minutes

—	+ 1	—	—	5	—
—	+ 1/4	—	—	9-10	—

2° Deux tablettes dissoutes dans 500 centimètres cubes d'eau puis filtrées :

10 cmc. de lait + 2 cmc. de la solution : caillés en 58 minutes
10 cmc. de lait + 1 — — 1 h. 30
— + 1/20 — — 2 h. 45

Avec la présure de contrôle (une tablette dans 500 centimètres cubes d'eau), le résultat fut :

10 cmc. de lait + 1 cmc. de présure : caillés en 4 minutes
— + 1/20 — — 30 —

3° Quatre tablettes dissoutes dans 500 centimètres cubes d'eau, puis filtrées :

10 cmc. de lait + 1 cmc. de la solution : caillés en 18-19 minutes
— + 1/4 — — 58 —
— + 1/20 — pas caillés après 2 h. 20

Présure de contrôle :

10 cmc. de lait + 1 cmc. de présure : caillés en 4-5 minutes
— + 1/4 — — 15 —
— + 1/20 — — 40 —

4° Six tablettes dissoutes dans 500 centimètres cubes d'eau, puis filtrées :

10 cmc. de lait + 1 cmc. de la solution : caillés en 12 minutes
— + 1/4 — — 29 —
— + 1/20 — — 2 heures

Présure de contrôle :

10 cmc. de lait + 1 cmc. de présure : caillés en 5-6 minutes
— + 1/4 — — 14 —
— + 1/20 — — 62 —

5° Huit tablettes dissoutes dans 500 centimètres cubes d'eau, puis filtrées :

10 cmc. de lait + 1 cmc. de la solution : caillés en 6-7 minutes
— + 1/4 — — 25 —
— + 1/20 — pas caillés après 2 h.

Présure de contrôle :

10 cmc. de lait	+ 1 cmc. de la solution :	caillés en		3 1/2-4	minutes
—	+ 1/4	—	—	9	—
—	+ 1/20	—	—	39	—

Il est à noter que les résultats peuvent différer un peu ; ainsi, d'autres fois, j'ai obtenu, avec 6 tablettes, le même effet que dans cette expérience avec 8 tablettes ; une autre fois, 4 tablettes filtrées se montrèrent aussi efficaces que la solution de contrôle; ceci tient évidemment à des différences dans la qualité des bougies employées, mais il est facile de déterminer par un essai préliminaire la force de la présure filtrée. On peut donc, lorsqu'on tient à employer une présure stérile, facilement atteindre ce but par la filtration; il suffit, pour que la présure ne soit pas trop affaiblie, d'employer des solutions concentrées (6 à 8 tablettes dans 500 centimètres cubes d'eau).

Avec le temps, la force de la présure filtrée tend à diminuer. Ainsi, une solution de 6 tablettes qui, de suite après la filtration, faisait cailler 10 centimètres cubes de lait en 5 à 6 minutes, à la dose de 1 centimètre cube, ne produisait cet effet, après 15 jours, qu'après 1 h. 20 minutes (la solution était restée parfaitement limpide).

Une question qui se trouve en connexion avec les expériences qui viennent d'être relatées, est celle de la coagulation, par la présure, des laits pasteurisés ou chauffés. La question n'est pas sans importance pour le cas où l'on croirait utile, dans l'avenir, de pasteuriser les laits destinés à la fromagerie.

Dans ses recherches sur l'action de la présure, le Dr Schaffer (1) a constaté, comme M. Eugling, que le lait cuit n'est plus coagulé par la présure; il récupère, toutefois, cette faculté, quand on le fait traverser par un courant d'acide carbonique. M. Benjamin a contesté l'exactitude de ce fait et montré qu'en ajoutant 0,1 gramme de poudre de présure à 20 centimètres cubes de lait cuit, on en provoque la coagulation. La contradiction qui semble exister entre ces résultats n'est, cependant, qu'apparente.

(1) *Landes, Jahrbuch der Schweiz*, I, p. 43.

M. Schaffer n'a, en effet, employé que la quantité normale de présure, suffisante pour coaguler la même quantité de lait cru, tandis que M. Benjamin a employé, pour obtenir un résultat positif, de très fortes quantités de présure ; lorsqu'il employait la dose normale, il n'obtenait pas non plus de coagulation. La cuisson ne détruit, en effet, pas d'une manière absolue la propriété du lait de se coaguler sous l'action de la présure, mais la diminue seulement.

Les expériences suivantes en font foi :

1° Lait cuit pendant 2 minutes :

10 cmc. de lait + 2 cmc. de présure (une tablette dans 500 cmc. d'eau) : caillés en 40 minutes.

10 cmc. de lait + 1 cmc. de présure (une tablette dans 500 cmc. d'eau) : caillés en 30 minutes.

Avec 2 centimètres cubes, le lait a été coagulé moins rapidement qu'avec 1 centimètre cube, par suite de sa plus grande dilution. La coagulation du lait n'était, toutefois, pas normale.

Une tablette fut alors dissoute dans 5 centimètres cubes d'eau, dont on ajouta 90 gouttes (= 9/10 de la tablette), 3 gouttes et 1 goutte à 10 centimètres cubes de lait cuit :

10 cmc. de lait cuit	+ 90	gouttes : caillés en	moins de 5 minutes
—	+ 10	—	—
—	+ 1	—	—

Le moment précis de la coagulation n'a pas été noté.

2° Lait cuit pendant 5 minutes. La présure employée est une solution d'une tablette dans 5 centimètres cubes d'eau.

10 cmc. de lait cuit	+ 90	gouttes de la solution	: caillés en	3 min.
—	+ 10	—	—	1 1/2
—	+ 1	—	—	3

Ici aussi la plus grande dilution du lait a retardé la coagulation.

3° Lait chauffé rapidement jusqu'à ébullition :

10 cmc. de lait + 1 cmc. de présure (une tablette dans 500 cmc. d'eau) : commence à se cailler après 13-14 minutes.

Il en est de même du lait stérilisé à haute température (115-120°). M. Benjamin affirme que ce lait ne se coagule plus du tout. Ceci n'est pas exact, mais il faut employer des doses énormes. Ainsi, j'ai vu la coagulation se produire en 1 heure, lorsqu'on ajoutait une tablette entière à

10 centimètres cubes de lait. Il est évident que, dans la pratique, ceci ne serait d'aucune utilité.

Les expériences suivantes montrent l'action de températures peu élevées :

Expérience I

Lait pasteurisé pendant un quart d'heure à 68 degrés :

10 cmc. de lait	+ 1 cmc. de la solution habituelle :		caillés en	3 1/2 m.
—	+ 1/4	—	—	9

Le lait de contrôle se coagule même un peu moins rapidement, en 4 1/2 et 13 minutes.

Expérience II

Lait pasteurisé un quart d'heure à 68 degrés :

10 cmc. de lait	+ 1 cmc.	de présure :	caillés en	4 1/2	minutes
—	+ 1/4	—	—	10	—
—	+ 1/20	—	—	42	—

Lait de contrôle :

10 cmc. de lait	+ 1 cmc.	de présure :	caillés en	4-4 1/2	minutes
—	+ 1/4	—	—	10	—
—	+ 1/20	—	—	40	—

Expérience III

Lait pasteurisé un quart d'heure à 68 degrés :

100 cmc. de lait + 2 cmc. de présure : caillés en 17 minutes

Le lait de contrôle se cailla en 16 minutes.

Expérience IV

Dans cette expérience, le lait fut chauffé à 60 degrés pendant 1/4, 1/2 et 1 heure; chaque fois on employa 100 centimètres cubes de lait et 2 centimètres cubes de présure.

Lait chauffé	1/4 d'heure :	caillé en	19	minutes
—	1/2	—	19	—
—	1	—	24	—

Le lait de contrôle se cailla également en 19 minutes.

Expérience V

Lait chauffé 1/4 d'heure à 72 degrés :

10 cmc. de lait + 1 cmc. de présure : caillés en 4 1/2 minutes
— + 1/4 — — 2 —
— + 1/20 — pas caillés après 1 h. 1/2,
mais caillés après 3 h. 1/2.

Le lait de contrôle fut coagulé en 4 1/2, 13 et 45 minutes.

Expérience VI

Lait chauffé 1/4 d'heure à 75-80 degrés :

10 cmc. de lait + 1 cmc. de présure : caillés en 16 minutes
— + 1/4 — — 30 — mais mal.

Le lait de contrôle fut coagulé en 4 1/2 et 10 minutes.

Expérience VII

Lait chauffé 1/4 d'heure à 85 degrés :

10 cmc. de lait + 1 cmc. de présure : pas encore bien caillés après 1 heure, mais moins fluide.
10 cmc. de lait + 1/4 cmc. de présure : pas caillés après 1 h. 1/2.

Le lait de contrôle se caille en 4 et 10-11 minutes.

Expérience VIII

Lait chauffé 10 minutes à 90 degrés :

10 cmc. de lait + 1 cmc. de présure : encore mal caillés après 1 heure.
10 cmc. de lait + 1/4 cmc. de présure : aucune trace de coagulation après 1 h. 1/2.

Le lait de contrôle fut coagulé en 4 et 10-11 minutes.

Il résulte de ces expériences qu'un lait qui n'a pas été chauffé trop longtemps à 68° se coagule encore parfaitement bien sous l'action de la présure. Quand on le chauffe plus longtemps, ou que la température dépasse 70°, il perd en partie la propriété de se coaguler. Dans la pratique, par conséquent, il serait possible de pasteuriser le lait destiné à la fromagerie si le besoin s'en faisait sentir, à condition, naturellement, que l'on ajoute après la pasteurisation les bactéries nécessaires à la maturation du fromage.

REVUES ET ANALYSES[1]

O. Tiktine. — **Transmission des spirochètes de la fièvre récurrente par les punaises** (*Meditzinskoïe Obozrenié*, 1896, n° 21).

Ayant remarqué pendant la dernière épidémie de typhus récurrent à Odessa, que la maladie sévissait surtout dans des asiles de nuit très mal tenus et particulièrement riches en parasites de toutes sortes, l'auteur eut l'idée d'examiner ces parasites pour chercher des spirochètes dans leur sang. Comme on ne lui avait envoyé que des poux, il a dû se contenter d'abord d'eux, mais ces parasites n'étaient pas porteurs de spirochètes. Alors, pour avoir des punaises à examiner, il procéda de la façon suivante : Après avoir fait jeûner pendant quelques jours des punaises placées dans des ventouses, il les appliquait sur la peau des malades et des singes atteints de fièvre récurrente. Puis, quand les parasites, gorgés de sang, se détachaient, il les écrasait sur un verre porte-objet et examinait les préparations colorées au violet de gentiane. Il constata alors que le sang des punaises contenait des spirochètes, ayant parfaitement conservé leur forme pendant plus de 18 heures, mais immobiles. Ensuite, après avoir appliqué des punaises à jeun sur la peau rasée d'un singe atteint de typhus récurrent, il les écrasa, recueillit le sang de 8 de ces punaises et l'injecta à un singe bien portant. 64 heures après, on trouva dans le sang de ce dernier des spirochètes. M. Tiktine admet donc que les punaises peuvent transmettre la fièvre récurrente, soit en passant d'un malade à un homme bien portant et en introduisant dans la plaie sa bouche sur laquelle reste une gouttelette de sang avec des spirochètes ; soit lorsque, gorgées de sang à spirochètes, elles viennent sur un sujet sain, y sont écrasées et que le sujet produit ensuite, par le grattage, une solution de continuité de la peau.

Mme El.

Anitchkoff-Platonoff. — **Des microbes de la cavité buccale chez les malades** (Thèse de Saint-Pétersbourg, 1896).

L'auteur arrive dans son travail aux conclusions suivantes :

1° L'examen bactérioscopique de la salive peut permettre de

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

juger du degré de souillure de la cavité buccale des malades par des microbes ; la salive doit, dans ce but, être diluée au 1/10000 ;

2° La bouche des malades fourmille de microorganismes, aussi est-il indispensable de la nettoyer plusieurs fois par jour, surtout au moment des repas ou des boissons, et au réveil et avant le sommeil ;

3° Les différents états de l'organisme ne retentissent pas beaucoup sur la quantité des microbes de la bouche ;

4° Dans les maladies générales, la salive est surtout riche en streptocoques, viennent ensuite le staphylocoque doré et puis le staphylocoque blanc ;

5° La présence du pneumocoque est loin d'y être constante.

6° L'examen de la salive des typhiques, fait d'après le procédé de Vincent, n'y a pas démontré la présence des bacilles d'Eberth ;

7° Les bacilles de Koch, qu'on trouve chez les tuberculeux, sont parfois pathogènes.

Parmi les autres variétés *microbiennes*, l'auteur a surtout rencontré les suivantes : *B. fluorescens*, *luteus*, *Cladothrix dichotoma*, bacille du foin, *B. megaterium*, des sarcines ; mais il n'a pas obtenu de cultures des formes anaérobies.

Mme El.

M. Tartakowsky. — **Contribution à l'étiologie de la peste bovine** (*Arch. russes des Sciences biol.*, IV, n° 3.)

Malgré le nombre considérable de travaux faits à ce sujet, l'étiologie de la peste bovine est loin d'être élucidée ; chaque auteur se servait d'un procédé particulier et trouvait un nouveau microorganisme. M. Tartakowsky apporte aussi à l'étude de cette question son contingent de recherches et croit devoir la résoudre par la négative, du moins pour le moment. Les premières recherches remontent à 1891, époque à laquelle il ne put que faire l'examen microscopique et bactériologique du sang et des viscères d'animaux pestiférés. Contre toute attente et malgré tout le soin apporté à ces recherches, les résultats furent négatifs : ni sur les pièces, ni dans aucun des milieux ensemencés par du sang et des fragments de reins, rat, foie, utérus, ganglions lymphatiques, il n'a pu obtenir aucun des agents pathogènes de la peste, signalés jusque-là par les auteurs, et cela sur 23 autopsies d'animaux sacrifiés à différentes périodes de la maladie. Par contre, l'auteur trouva une riche végétation bactérienne à l'examen des érosions de la muqueuse gingivale ou de la caillette, dans le contenu du canal intestinal et le mucus nasal.

Lorsqu'en 1893 il répéta ses recherches en faisant des cultures sur plaques avec le mucus nasal et le contenu du tube gastéro-

intestinal, il constata surtout la prédominance d'une forme bactérienne, rappelant beaucoup le b. d'Eberth et que l'examen plus minutieux démontra n'être autre chose que le coli bacille. Cependant ce n'était pas là l'agent pathogène de la peste puisque l'inoculation des cultures du coli bacille n'a pas produit chez le veau de peste, mais seulement des affections de gravité différentes, suivant la virulence de la culture.

En même temps que le coli bacille, l'auteur a isolé dans les milieux examinés un autre bacille très voisin et se distinguant par l'aspect touffu de ses colonies sur gélatine, des variétés du proteus, un streptocoque court et des cocci pyogènes, enfin, chez les veaux qui tètent, le *Bacterium lactis*. Deux fois seulement le colibacille se trouvait dans le sang et les viscères. En outre, suivant les différentes muqueuses (vaginales, buccales, nasales) il y avait dans la plupart des cas prédominance d'une de ces espèces ; cependant la contagiosité est la même, qu'il s'agisse des excreta du mucus nasal on buccal.

Toutes les variétés bactériennes que l'auteur a isolées par la culture furent inoculées à des veaux, mais les résultats furent toujours négatifs : *jamais ces inoculations n'ont provoqué de peste. Il en fut de même avec l'inoculation du sang et de fragments d'organes provenant d'animaux pestiférés* et dans lesquels (organes et sang) on n'avait trouvé aucune espèce bactérienne. Les inoculations avaient été faites dans la chambre intérieure de l'œil, sous la peau ; on se servait de fragments de rate ou de muqueuse utérine. Les ensemencements étaient faits sur le bouillon peptone, la gélatine, l'agar, sur les milieux additionnés de glycérine ou de sucre dans le sérum sanguin, le lait, le liquide ammiotique, le jaune d'œuf, sur la pomme de terre. En raison de ces résultats négatifs, l'auteur conclut que l'agent pathogène de la peste n'appartient pas aux bactéries, mais probablement aux sporozoaires, comme c'est d'ailleurs, aussi, l'avis de Pfeiffer et de Koch.

En 1894, ont paru en Russie deux travaux dont les auteurs prétendaient avoir découvert l'agent pathogène de la peste (variété colibacillaire et variété de proteus), mais les deux n'ont pas fait de recherches de contrôle pour démontrer que ces microorganismes ne se rencontrent pas dans le canal intestinal des animaux sains ou morts d'une maladie quelconque. Aussi M. Tartakowsky pense-t-il qu'on ne doit attribuer à ces travaux aucune valeur. — De toutes ces recherches l'auteur tire les conclusions suivantes :

I. — Tous les microorganismes sans exception, décrits jusqu'ici par les divers auteurs comme agents pathogènes de la peste bovine, n'ont en réalité aucun rapport avec cette affection. Tels sont les microcoques de Semmer et de Klebs, les bacilles de Mezdorff, les sarcines de Kostitcheff, les spiriles de Kolesnikoff, les

bacilles polymorphes de Savelieff, les bacilles typhoïdes de Metchnikoff et Gamaleïa, les bacilles de Zakharoff et le proteus de Sadovsky.

II. — Aucun des microorganismes qu'on arrive à isoler du canal gastro-intestinal et des muqueuses nasales, trachéale, vaginale, et cultivés sur les milieux ordinaires, ne permet, après isolement successif en plusieurs générations, de provoquer par inoculation la peste chez le veau.

III. — Le plus souvent tous ces microorganismes se rencontrent aussi chez les animaux bien portants.

IV. — Le sang et les viscères des animaux pestiférés sont, dans la grande majorité des cas stériles, en ce sens qu'on ne peut y démontrer ni bactériologiquement, ni microscopiquement, la présence de bactéries. Néanmoins ce sang et ces viscères contiennent le contage de la peste, car leur inoculation provoque toujours la peste.

V. — Il est très rare de trouver des bactéries dans le sang et les viscères des animaux atteints de peste, et leur présence dans ces cas n'est due qu'à une infection secondaire accidentelle ou bien est un phénomène *post mortem*.

VI. — La peste des bêtes à cornes est probablement provoquée non pas par une bactérie, mais par des sporozoaires ou bien des microorganismes dont la reconnaissance est impossible par les méthodes actuellement en usage.

VII. — La peste bovine ne peut en aucun cas être inoculée aux lapins, aux cobayes, aux souris blanches, aux pigeons, aux chats.

Mme El.

G. Smirnoff. — **Valeur de la globuline dans l'évaluation de la force antitoxique du sérum antidiphtérique** (*Archives russes des sciences biologiques,* t. IV, n° 3).

Dans ses recherches sur l'antitoxine diphtérique obtenue de la culture dans le bouillon par électrolyse (V. *Ann. de Microg.*, 1897, n° 1) l'auteur a remarqué que cette antitoxine, tout en ayant une action curative aussi intense que le sérum antidiphtérique, s'en distingue par la capacité moindre de neutraliser la toxine. Étant donné la différence de composition du bouillon et du sérum de cheval, cette faible neutralisation aurait pu être due à l'absence de globuline dans le bouillon; d'autant plus que les cultures sur l'albumine donnent une toxine beaucoup plus virulente que celle des cultures sur la globuline. Aussi M. Smirnoff a-t-il cherché à savoir comment se comporte la globuline normale vis-à-vis la toxine diphtérique.

On injecta à un cobaye $0^{cc},10$ de toxine et à un autre la même

quantité, mais diluée de 2 centimètres cubes de globuline obtenue stérilisée par précipitation du sérum sanguin de cheval, dissous dans une solution de chlorure de sodium à 2 p. 100. Le premier de ces cobayes succomba au bout de 16 heures et demie, tandis que l'autre survécut, mais eut pendant quelques jours de l'hypothermie. Lorsqu'on injecta ensuite à un cobaye $0^{cc},10$ de la toxine et $0^{cc},01$ de la solution de globuline et à un autre la même quantité de toxine et $0^{cc},50$ de globuline, les deux animaux survécurent. En diminuant graduellement la quantité de la globuline, l'auteur a constaté que si on en injecte moins de $0^{cc},02$ (le poids de l'animal étant toujours à peu près le même) l'animal succombe.

Si l'on injectait la globuline en même temps que la toxine, mais sans mélanger les deux liquides et en faisant l'injection en des régions différentes, le cobaye succombait toujours, quelle que fût la dose de globuline; celle-ci n'avait donc aucune action curative, laquelle appartenait exclusivement à l'albumine. Les unités d'antitoxine du sérum antidiphtérique s'obtiennent donc exclusivement aux dépens de la partie non curative du sérum, la globuline : mélangée à la toxine, la globuline de ce sérum donne lieu à la réaction, son albumine étant déjà saturée par la toxine pendant l'immunisation. A ce point de vue, on a tort de vouloir obtenir le plus grand nombre d'unités dans la plus petite quantité de liquides, puisqu'on diminue du même coup la quantité de sérum actif, c'est-à-dire d'albumine. D'autre part, ces recherches démontrent que l'étude expérimentale du rapport étroit qu'on prétend exister entre le nombre d'unités d'un sérum et sa force curative s'impose. L'auteur publiera sous peu les nouvelles recherches qu'il a faites à ce sujet.

Mme El.

K. Fleroff. — **De la propriété fermentative du microorganisme de Friedlander et de son analogie avec le bacille aerogenes** (*Archives russes de Pathologie*, t. I, f. 5).

D'après l'auteur, il y a analogie complète entre ces deux bactéries, non seulement au point de vue microscopique, mais encore au point de vue des cultures. Il en est encore de même pour leur faculté de coaguler le lait, avec dégagement de CO^2 ; mais le bacille de Friedlander provoque cet effet plus lentement.

Enfin l'action pathogène de ces deux bactéries sur les animaux complète encore l'analogie si grande entre ces deux variétés microbiennes, car l'auteur a obtenu des processus septiques et pyogènes aussi bien par l'inoculation du bacille de Friedlander que par celle du *Bacillus lactis aerogenes* (septico-pyothémie). En outre, M. Fleroff pense que leur présence dans le lait doit toujours

faire rejeter l'emploi de celui-ci, car ils provoquent la fermentation et décomposent le lait en CO^2 et acide lactique.

Mme El.

Koudrine. — **Modifications morphologiques du sang dans le typhus récurrent** (*Gaz. clin. de Botkine*, 1896, n° 50).

L'auteur ne donne, dans la note préliminaire qu'il publie, que les conclusions qu'on peut tirer des recherches qu'il a faites à ce sujet.

1° Le taux de l'hémoglobine baisse pendant l'accès et parfois aussi pendant les premiers jours de la période apyrétique ; à chaque nouvel accès la diminution est de plus en plus considérable ;

2° Le nombre d'hématies diminue également pendant l'accès, et cette diminution est également de plus en plus considérable pendant les accès suivants ; pendant les premiers jours de l'apyrexie leur nombre diminue également, mais le plus souvent il augmente pendant la deuxième moitié de la période apyrétique ;

3° Le nombre de leucocytes augmente pendant l'accès et diminue généralement après la crise ; le maximum de leucocytes s'observe parfois au début de l'apyrexie. Pendant l'accès, le nombre le plus élevé de leucocytes s'observe dans les premiers jours, puis leur quantité diminue ; s'il s'agit du dernier accès, les leucocytes atteignent le maximum à la fin de celui-ci ;

4° Pendant l'accès on constate aussi une diminution du nombre relatif des petits et grands lymphocytes et des petits transparents (des éléments jeunes des leucocytes d'après la classification d'Ouskoff) qui atteignent le minimum à la fin de l'accès. Ils augmentent après la crise, atteignent le maximum pendant la période apyrétique et diminuent ensuite de nouveau. Par contre, le chiffre relatif de gros leucocytes transparents, des labiées et de toutes les formes intermédiaires (éléments mûrs de Ouskoff), augmente pendant l'accès et diminue après la crise, puis après avoir atteint un minimum augmente de nouveau. Il en résulte que pendant l'accès il y a parfois autant d'éléments jeunes que d'éléments mûrs. Par contre, le nombre des polynucléaires (ultramurs de Ouskoff) augmente pendant l'accès pour diminuer après ;

5° Le taux relatif d'éosinophiles diminue généralement pendant l'accès ;

6° Il y avait, en outre, pendant les accès, diminution des éléments désignés par Ouskoff sous le nom de corps en destruction et par E. Botkine sous celui de formes en dissolution.

Mme El.

E. Botkine. — **Contribution à la morphologie du sang et de la lymphe** (*Virchows Archiv*, Bd., 145, f. 2).

En appliquant à la lymphe son procédé de recherche sur la dissolution des leucocytes en dehors de l'économie à la température du corps humain et en comparant les formes de dissolution à celles qu'on observe sur les préparations de sang frais séché, l'auteur est arrivé à établir quatre types de dissolution des lymphocytes ou autres leucocytes dans le plasma qui les contient :

1° Le noyau se diffuse dans le protoplasma cellulaire, tandis que celui-ci pousse des prolongements qui se dissolvent rapidement, se restreint jusqu'à ce qu'il n'en reste qu'une bande étroite qui se colore beaucoup plus que le noyau ;

2° Les prolongements du protoplasme se dissolvent plus lentement que dans le premier cas ; le protoplasma et le noyau se gonflent, mais ne se confondent pas entre eux ; le noyau se dissout dans le plasma, indépendamment du protoplasme, dès que celui-ci le met à nu ;

3° Le protoplasme se gonfle et se dissout comme dans le cas 2°, tandis que le noyau se confond avec lui comme dans le cas 1°.

4° Ce type de dissolution se distingue surtout par sa lenteur, aussi le noyau et le protoplasme sont-ils arrêtés au stade de gonflement ; ce stade est facile à observer sur des préparations fraîches de sang ou de lymphe à la température du corps.

La série de modifications que subissent les lymphocytes, avant et après l'action de la température, démontre que dans ces conditions des petits lymphocytes se transforment en gros ; c'est pourquoi l'auteur considère toujours comme des formes de dissolution les gros lymphocytes qui se colorent faiblement ou dont le noyau fixe moins la matière colorante que ne le fait le protoplasma.

Les leucocytes polynucléaires neutrophyles et les mononucléaires se transforment d'après le quatrième type, en transparents.

Les neutrophyles se dissolvent d'après les types 2° et 4°, il en est de même des mononucléaires, ce qui les distingue des lymphocytes, lesquels peuvent se dissoudre d'après tous les quatre types.

En se basant sur ces résultats, l'auteur conclut que les formes de dissolution des leucocytes doivent être signalées dans tout examen morphologique du sang.

Mme El.

Dvouyeglasoff. — **Examen bactériologique de la cavité buccale chez les typhiques** (Thèse de Saint-Pétersbourg, 1896).

L'auteur a examiné la salive et le liquide obtenu par l'expression d'un tampon dont on essuyait au préalable la face supérieure de la langue. Dans 37 examens faits chez 15 typhiques, on n'a trouvé que deux fois le bacille d'Eberth dans la cavité buccale : le 12e et le 25e jour de la maladie. Chez ces mêmes malades on a constaté 17 fois (chez 8 malades) le staphylocoque aureus, 6 fois (chez 5 malades) le staphylocoque blanc, trois fois le streptocoque (2 typhiques), et le coli bacille 21 fois (10 typhiques).

L'examen comparatif fait chez les infirmiers qui soignaient ces malades a donné les résultats suivants :

Sur dix examens	le bacille d'Eberth a été trouvé	0 fois
	le staphylocoque doré	6 —
	— blanc	5 —
	le streptocoque	4 —
	Coli bacille	4 —

En se basant sur ces recherches, Dvouyeglasoff conclut que :

1° Le bacille d'Eberth se trouve très rarement dans la bouche des typhiques ;

2° Par contre, les staphylocoques y sont très fréquents ;

3° Les mêmes cocci se trouvent souvent dans la bouche des infirmiers qui soignent les typhiques ;

4° Le streptocoque est rare dans la cavité buccale des typhiques, mais se trouve beaucoup plus souvent dans celle des infirmiers ;

5° Le coli bacille se trouve fréquemment dans la bouche des uns et des autres ;

6° On obtient très peu de colonies liquéfiantes sur le milieu proposé par Holz ;

7° Si l'on ajoute aux liquides à examiner 0,08 p. 100 d'acide phénique, on entrave un peu le développement des bactéries qui liquéfient la gélatine sans gêner en même temps le développement du bacille d'Eberth et du coli bacille ;

8° Si l'on ajoute à la gélatine à la pomme de terre 1 p. 100 de KI, on obtient l'arrêt du développement d'un grand nombre de microbes, mais non celui du coli bacille et du bacille d'Eberth ;

9° Le procédé de Kruse-Freudenreich permet d'obtenir sur l'agar solidifié des colonies dès le lendemain, ce qui active singulièrement la recherche.

Mme El.

E. Pastor. — **Examen bactérioscopique de l'eau de quelques sources à Saint-Pétersbourg** (*Société russe d'hygiène publique*, 1896, 26 novembre).

L'eau de la première série de sources contenait très peu de bactéries d'eau (0 à 53) ; les variétés qu'on y rencontrait le plus souvent étaient le *B. fluorescens liquéfaciens*, le *B. aquatilis* et le *Micrococcus caudicans*. Le nombre des bactéries, sans rapport avec la saison, augmentait notablement après les pluies.

Dans les sources de la deuxième catégorie, il y a également peu de bactéries, sauf dans les sources Poudost et Kaoughi (88-94 bactéries et 200-146). Exception faite de ces deux sources, la teneur en bactéries ne dépasse pas 10-20. Les sources qui forment le fleuve Vereva présentent plus de différences.

L'eau des puits forés présente plus d'intérêt pratique, car ce sont elles qui fournissent toute l'eau de la capitale. L'examen répété de l'eau provenant de ces sources, d'une profondeur considérable, a démontré qu'elle était tout à fait dépourvue des bactéries, tandis que l'eau de provenance plus superficielle contenait 8-10 colonies de deux espèces bactériennes. On peut donc dire que, par sa pureté, l'eau des sources forées est absolument idéale au point de vue bactériologique ; 400 centimètres cubes de cette eau laissés à la température de la chambre est restée pendant 2 mois sans bactéries, tandis que l'eau de source ordinaire entretenait, malgré sa richesse en sels calcaires, la vie des bactéries saprophytes de l'eau (22 variétés).

Pour ce qui est du développement du bacille d'Eberth et du bacille virgule, la vitalité de ce dernier est rapidement altérée, dès le premier jour, dans l'eau de source ; elle persiste 10 jours dans l'eau de la Néva et 5 jours dans l'eau de source des faubourgs sud de Saint-Pétersbourg, les bacilles d'Eberth conservaient dans l'eau des puits forés leur vitalité pendant 15 jours.

Mme El.

R. Kraiouchkine. — **Statistique des inoculations antirabiques à Saint-Pétersbourg pendant l'année 1895** (*Arch. russes des Sciences biol.*, t. IV).

397 personnes se sont présentées à la section d'inoculations antirabiques ; sur ce chiffre 95 n'ont pu ou voulu être inoculées. Sur les 302 autres, 13 interrompirent bientôt le traitement, ne voulant pas le suivre, 11 n'ont pas été mordus, mais avaient souillé les plaies qu'ils avaient aux mains, avec de la salive d'animaux enragés, 7 des traités avaient été mordus par des animaux non enra-

gés, ainsi qu'il fut démontré plus tard, enfin 2 sujets étaient traités préventivement, par suite d'emploi de lait de vache devenue enragée.

Il n'y eut donc en tout que 269 sujets immunisés ; dont 107 hommes, 63 femmes et 99 enfants.

Le plus grand nombre de morsures et d'inoculations s'observait en mai et en juillet, le moindre en décembre.

Sur les 269 sujets mordus, sont venus pour être traités :

Dans les premiers trois jours	61
Au cours de la 1re semaine	119
— 2 —	49
— 3 —	16
— 4 —	1
Un mois après	22
Un an après	1

Dans la grande majorité des cas, les plaies étaient aux membres supérieurs.

Sur le nombre total des traités 2 succombèrent à l'hydrophobie, dont 1 au cours du traitement lorsque celui-ci n'a encore pu agir, et l'autre à son retour chez lui, le traitement ayant été complet. La mortalité était donc 0,7 p. 100, ou si l'on ne tient pas compte de la mort survenue au cours du traitement, de 0,4 p. 100.

Mme El.

A. Lösch. — **Diagnostic de la tuberculose par la tuberculine d'après l'état du sang** (*Arch. russes des Sciences biol.*, t. IV, p. 5).

Le but de ce travail est de contribuer au diagnostic de la tuberculose après injection de la tuberculine, non seulement par la mensuration de la température, mais encore par l'étude comparée de la leucocytose.

Dans ses nombreuses recherches faites à ce sujet, l'auteur a constaté que :

1° La réaction sanguine est, chez les animaux tuberculeux auxquels on injecte la tuberculine, beaucoup plus vive que la réaction thermique ;

2° Déjà, au bout de 2 à 4 heures, on constate une diminution notable du taux de leucocytes chez les animaux tuberculeux, tandis que chez les animaux sains la tuberculine ne provoque pas cette hypoleucocytose ;

3° Après injection de tuberculine, la leucocytose la plus marquée s'observe chez les animaux tuberculeux au 3e jour, tandis que chez les animaux sains elle se montre dès le 2e jour. (D'après

Golzinger, toute hypoleucocytose est le précurseur d'une hyperleucocytose) ;

4° La température s'élève même chez les animaux sains de 1 degré et plus ; la température seule ne peut donc pas toujours permettre de juger s'il s'agit d'un animal tuberculeux ou non ;

5° L'injection de tuberculine provoque chez les cobayes bien portants, au bout de 1 à 2 heures, de l'hyperthermie qui disparaît, il est vrai, 3 à 6 heures plus tard ;

6° L'hypoleucocytose chez les animaux tuberculeux traités par la tuberculine est un phénomène général ;

7° Chez les veaux l'hypoleucocytose est surtout marquée au bout de 2 heures; la leucocytose survient ensuite plus rapidement que chez les lapins ;

8° Chez les lapins atteints de charbon, la tuberculine provoque de l'hypotermie et ne donne pas de réaction hématologique bien nette ;

9° La malléine agit très probablement sur les leucocytes d'animaux atteints de morve, de la même façon que la tuberculine chez les animaux tuberculeux.

L'examen du sang peut donc, dans les cas où la réaction thermique est douteuse, rendre de réels services dans le diagnostic de la tuberculose, et probablement aussi de la morve, chez les animaux.

Mme El.

F. Tchistovitch. — **Perméabilité de la paroi intestinale pour les bactéries dans la péritonite expérimentale** (*Gaz. clin. de Botkine*, 1896, n° 44-45).

Cette question a déjà été étudiée à de différents points de vue par plusieurs auteurs. L'on sait que si le péritoine oppose aux bactéries présentes dans l'intestin une barrière infranchissable lorsqu'il est intact, il n'en est plus de même dès que son revêtement endothélial est plus ou moins altéré. M. Tchistovitch a institué une série d'expériences afin de mettre en lumière, autant que possible, le rôle exact de l'inflammation simple de la paroi intestinale et de son revêtement séreux. Ces expériences étaient faites de la façon suivante :

On introduisait par la sonde dans l'estomac de lapins, à jeun depuis la veille, 10 centimètres cubes d'une solution de soude à 5 p. 100 (pour neutraliser le milieu) et le produit de grattage de la surface de 2-3 tubes d'une culture sur l'agar, dissous dans une solution physiologique. Ensuite on attirait au dehors (après avoir fait la laparotomie aussi antiseptiquement que possible) quelques anses intestinales, badigeonnées avec du nitrate d'ar-

gent (1 à 10 p. 100) de la teinture d'iode, ou bien au lieu de leur faire subir un badigeonnage irritant, on enlevait simplement leur revêtement séreux dans une étendue de 1/2 centimètre. On réduisait ensuite ces anses et on introduisait dans la cavité abdominale, suspendu à un fil, un tampon de gaze stérilisée destinée à recueillir l'exsudat séreux, après quoi on fermait la plaie.

Le lendemain, si l'animal survivait, on lui introduisait par la sonde une nouvelle dose de culture et le jour suivant on enlevait, après nouvelle laparotomie, le tampon laissé dans l'abdomen; en outre, avec un second tampon on essuyait la surface des anses intestinales et avec ces deux tampons on ensemençait divers milieux. Pour contrôler les résultats obtenus on sacrifiait quelques lapins avant la deuxième laparotomie et on examinait au point de vue bactériologique le contenu de l'intestin et le sang du cœur. Enfin à 3 lapins on fit simplement la laparotomie sans léser d'une façon quelconque la séreuse intestinale.

L'auteur fit ainsi 7 expériences avec le b. pyocyanique, 7 avec le tetragenus de Gaffky, 3 avec le *B. prodigiosus*, 2 avec le vibrion cholérique et 1 avec le *B. indicus*.

Dans toutes ces expériences, à l'exception de deux, les résultats furent négatifs; jamais on ne trouva dans la cavité abdominale de bactéries introduites dans l'estomac. Dans l'une des deux exceptions, le passage des bactéries était dû à la nécrose partielle de l'intestin, quant à l'autre exception où l'on trouva le b. pyocyanique dans la cavité péritonéale, l'auteur l'attribue à une faute d'antisepsie, car ce serait un seul fait positif sur 18 négatifs, et d'autre part on ne trouva pas, chez ce lapin, de bacilles sur le tampon dont on essuya la séreuse intestinale.

On peut donc dire que l'état inflammatoire du péritoine viscéral et même l'absence de la séreuse ne suffisent pas pour rendre la paroi intestinale perméable aux bactéries.

Mme El.

N. Machevsky. — **Étude sur la virulence du vibrion cholérique dans les cultures mixtes** (*Archives russes des Sciences biologiques*, t. IV, f. 2).

Dans ces recherches, faites sous la direction du professeur Nencki, l'auteur a étudié l'influence de la symbiose sur la virulence du vibrion cholérique, en se servant des variétés microbiennes suivantes :

1° Trois espèces isolées du canal intestinal de l'homme par Nencki, Macfayden et Sieber (*Bact. ilei Frey*, *Streptoc. liq. ilei*, et un court bâtonnet liquéfiant tardivement la gélatine ;

2° *Micr. ureæ fl. pyog.* de Rovsing;

3° Neuf espèces isolées au laboratoire de l'Institut de Médecine expérimentale, à Saint-Pétersbourg, par M. Kouritzine, du canal intestinal de la vache;

4° Tous les microorganismes (18 espèces) isolés des cornichons marinés et des pommes fraîches; cette recherche était intéressante parce que, pendant les épidémies de choléra, on considère généralement l'abus de fruits et de légumes comme prédisposant à l'infection cholérique;

5° Quelques variétés de champignons de la moisissure qui se développent souvent sur les concombres et les pommes marinées.

On s'est d'abord assuré, sur des cultures pures, de la virulence de chacune de ces espèces bactériennes ; 3 seulement (*B. ilei Frey*, *Strept. ilei et Microc. ureæ*) de tous ces microorganismes étaient pathogènes en culture pure pour la souris, mais restaient tout à fait inoffensifs pour les cobayes. Tous les autres microorganismes pris isolément n'étaient pathogènes ni pour la souris, ni pour le cobaye.

On prépara alors des cultures mixtes en ensemençant d'abord trois tubes à bouillon avec chacune des bactéries et en additionnant ensuite à chacun de ces tubes des cultures du vibrion cholérique provenant de Saint-Pétersbourg, de Berlin et de Marseille. Le mélange était ensuite laissé pendant deux jours au thermostat; on en injectait ensuite 1/2 centimètre cube aux souris et 1 centimètre cube aux cobayes après avoir ensemencé du bouillon avec chacune de ces cultures mixtes, puis faisant des inoculations consécutives jusqu'à la vingtième génération. La virulence de ces nouvelles cultures était examinée de cinq en cinq générations. De plus, on a ensemencé l'agar dans des boîtes de Petri avec les vibrions cholériques et un des microorganismes signalés plus haut, sous forme de stries entrecroisées. Après avoir laissé ces boîtes deux jours au thermostat, on en ensemençait du bouillon, on le mettait aussi au thermostat et on étudiait ensuite la virulence à l'aide d'inoculations.

D'autres séries d'expériences consistaient : 1) à faire des mélanges de plusieurs des espèces microbiennes des cornichons et des pommes, différemment combinées entre elles, avec les vibrions cholériques ; 2) à introduire dans l'estomac des lapins, des cultures mixtes du vibrion et d'un autre microbe; 3) à inoculer le vibrion cholérique isolé de ces mélanges pour savoir si après cette symbiose il n'acquiert une virulence particulière; quoique on prit pour ces expériences des vibrions ayant presque complètement perdu leur virulence, néanmoins, après avoir été cultivés avec quelques saprophytes absolument inoffensifs, ces vibrions, de nouveau isolés du mélange à l'état pur, possédaient une virulence très considérable. Nous reviendrons d'ailleurs sur ce point.

Les conclusions qu'on peut tirer de ces nombreuses expériences sont les suivantes :

1° Aucun des microorganismes, y compris les champignons de la moisissure, mais à l'exception du bacille *ilei Frey*, *du Streptoc. ilei* et du *Micr. ureæ*, n'était pathogène pour les souris (1/2 centimètre cube) et les cobayes (1 centimètre cube), en injection souscutanée des cultures pures dans le bouillon.

2° Ces 3 microorganismes étaient pathogènes pour les souris (mort au bout de 24 heures).

3° Les mélanges de microorganismes obtenus par ensemencement dans le bouillon des liquides de cornichons et de pommes n'étaient pathogènes ni pour les cobayés, ni pour les souris.

4° Le mélange artificiel des 18 espèces bactériennes isolées des liquides n'était pas non plus pathogène.

5° Même résultat négatif avec le mélange de variétés suivantes isolées des pommes et cornichons : coccus (n° 1), bâtonnet court et épais peu mobile (n° 4), petit coccus arrondi (n° 5), autre petit coccus (n° 6), bâtonnet et spores ovalaires (n° 7), autre bâtonnet avec spores ovalaires (n° 11), bâtonnet très court et très fin, mobile (n° 13), petits cocci disposés par deux ou en chaînettes (n° 15), un sacchromyces (n° 18); mais chacune de ces variétés est, en symbiose avec le vibrion cholérique, pathogène pour la souris.

6° De même, le mélange des n°s 1, 4, 6, 13, 15 et 18 ne fut pas pathogène, tandis que chacun d'eux est, ensemble avec le vibrion, pathogène pour la souris et le cobaye.

Résultats obtenus avec les mélanges avec le vibrion :

7° Bacille ilei Frey + vibrion : la première génération provoquait la mort des souris (en 20 heures) et des cobayes (en 16 heures).

8° Streptoc. ilei + vibrion : mort des souris pour la première et cinquième génération, pour les cobayes la première génération seule est pathogène; les cultures en stries entrecroisées sur les bacilles de Petri étaient pathogènes pour la souris (mort en 20 heures).

9° Microc. ureæ + vibrion : mélange pathogène dans sa première et cinquième génération pour les souris, dans la première seulement pour les cobayes; l'ensemencement dans les boîtes de Petri était pathogène pour la souris (mort au bout de 30 heures).

10° Long filament à spores ovalaires, isolé du canal intestinal des herbivores (variété n° 1) + le vibrion cholérique est seulement à la dixième génération pathogène pour la souris (mort en 12 heures); les cultures des bacilles de Petri étaient aussi pathogènes pour la souris (20 heures);

11° Bâtonnet court et mince, très mobile (variété n° 3 des

microorganismes des herbivores) + le vibrion pathogène à la dixième génération pour la souris (mort en 22 heures); les cultures des bacilles des boîtes de Petri provoquaient la mort au bout de 36 heures.

12° Bâtonnet long et épais (n° 8 des microorganismes des herbivores) + le vibrion : pathogène à la première, cinquième et dixième génération pour les souris, et seulement à la première pour les cobayes (les six autres variétés, isolées chez les herbivores, n'étaient pas pathogènes (mélangées au vibrion).

13° Des mélanges des bactéries isolées des infusions des cornichons ou des pommes et du vibrion, neuf espèces seulement étaient pathogènes :

a) Pour la souris : les mélanges du vibrion avec les variétés n°s 1, 4, 5, 6, 13, 15 et 18, de la première à la cinquième génération, et les n°s 7 et 11 seulement à la première.

b) Pour les cobayes étaient virulents les mélanges des vibrions avec les variétés 1, 4, 6, 13, 15 et 18 et seulement la première génération. Les cultures dans les boîtes étaient pathogènes seulement pour les souris (n°s 1, 4, 6, 13, 15, 18).

14° La culture mixte dans le bouillon ensemencé avec le vibrion et tous les microorganismes directement transportés des infusions de cornichons et de pommes, était virulente pour les souris dans les première et cinquième générations, et pour les cobayes seulement dans la première. Les ensemencements en stries étaient virulents pour les deux espèces d'animaux.

15° Le mélange artificiel des 18 espèces isolées des liquides des cornichons et de pommes, avec le vibrion, était pathogène : première et cinquième générations pour les souris, première pour les cobayes ; les cultures des boîtes de Petri étaient pathogènes seulement pour la souris.

16° Le mélange artificiel des variétés n° 1, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 15 et 18 et du vibrion était pathogène pour la souris (première et cinquième générations) et les cobayes (première génération).

17° Le mélange des n°s 1, 4, 6, 13, 15 et 18 avec le vibrion, était pathogène pour la souris et le cobaye dans les première et cinquième générations, mais avec mort plus tardive pour le cobaye.

Mélanges des cultures du vibrion avec les moisissures :

Trois seulement des champignons étaient (avec le vibrion toujours) pathogènes:

18° Le pénicillum (seulement la première génération, et seule pour la souris, mort au bout de quatre jours).

19° Aspergillus; première génération (pour la souris morte en 4 heures et pour les cobayes en 6 jours).

20° Oïdium, première génération, seulement pour la souris, mort au bout de quatre jours.

21° Chez les lapins seuls étaient pathogènes les mélanges du vibrion avec les variétés nos 4, 13 et 15 des pommes et cornichons, introduits par la sonde, de même que la symbiose du vibrion avec les levures.

22° Le vibrion devenait pathogène pour la souris, lorsqu'il était cultivé avec les levures ou bien avec les variétés 1, 4, 5, 6, 7, 11, 13 et 15 des pommes et cornichons. Le vibrion isolé de ses mélanges avec les variétés 15 et 18, était pathogène pour le cobaye et le lapin (inoculation hypodermique). Les mélanges du vibrion avec les nos 4 et 13 ont donné des résultats variables.

Ainsi donc on voit que les cultures pures des vibrions cholériques, non pathogènes (en inoculation sous-cutanée et introduction par voie gastrique), lorsqu'elles agissent seules, deviennent très virulentes même pour des animaux assez réfractaires au choléra, dès qu'on élève ces vibrions avec certaines espèces microbiennes saprophytes, très répandues. Ces recherches démontrent par conséquent l'importance de la symbiose du bacille virgule de Koch avec les microorganismes du canal intestinal de l'homme ou des carnivores, et même avec les champignons et les microorganismes qui se développent sur le cornichon et la pomme. Ce dernier point est particulièrement intéressant, car il donne une base scientifique au précepte jusque-là empirique d'éviter, pendant les épidémies de choléra, l'emploi des fruits et légumes non cuits.

Mme El.

N. Siber-Schoumova. — **Sérums anticoccíques** (*Arch. russes des Sciences biologiques*, t. IV, f. 5).

Ces expériences consistaient à immuniser des boucs, chèvres et poulains en leur inoculant des cultures de staphylo et streptocoques rendus très virulents par des inoculations successives aux lapins. On a ainsi obtenu un sérum antistaphylococcique dont la force était, à la première saignée, de 1 : 9000 (au bout de 6 mois d'immunisation); celle du sérum antistreptococcique était, au bout de 9 mois d'immunisation, de 1 : 10000 chez un grand bouc (38 k.) et de 1 : 15000 chez un petit (26 k.).

Les poulains ont donné au bout de 5 mois un sérum antistreptococcique de 1 : 4000 et 1 : 8000; le deuxième poulain a donné, à la deuxième saignée, un sérum de 1 : 15000.

L'auteur rappelle qu'on ne doit pas oublier d'examiner, avant de s'en servir, le sang de l'animal inoculé, car les cocci disparaissent assez lentement du sang.

En outre, il attire l'attention sur ce fait qu'on ne doit pas aug-

menter outre mesure la dose de cultures, même si l'animal la supporte très bien, si l'on ne veut pas s'exposer à le perdre. Pour Mme Siber, il est préférable de se servir pour ces expériences de la chèvre, car non seulement cette dernière est plus accessible et moins coûteuse, mais, ce qui est très important, elle supporte bien mieux que le cheval les inoculations en question.

Mme El.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *juin* 1897

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
			TEMPÉRAT.	PLUIE	VENT			
	BACTÉRIES	MOISISSURES	moyenne	Hauteur en millimèt.	Direction moyenne	Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 22 au 30 mai au 6 juin	6.000	2.160	18°,1	22mm,2	N	10km,5	80	78
N° 23 » 7 juin » 13 »	5.800	2.200	17,8	15,3	N	12,9	65	89
N° 24 » 14 » » 20 »	5.330	3.160	18,3	4,8	N	18,5	64	72
N° 25 » 21 » » 27 »	10.340	2.670	21,6	7,0	Var.	14,4	94	74
N° » » » » » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	6.870	2.550	18°,9	49mm3	N	14km,0	303	313
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises: les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (bronchite aiguë, broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Juin 1897. Bactéries = 3.000 Moisissures = 1.775 Température = 15°,3

Analyse de l'air au parc de Montsouris

Juin 1897. Bactéries = 80 Moisissures = 105 Température = 18°,9

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Juin* 1897

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Juin 1897	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge.	360	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant.	775	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust	530	1.825	»	»
» 9, passage de la Bonne-Graine	50	2.195	»	»
» 11, rue de la Plaine	300	2.195	»	»
» 15, rue Bréguet	400	2.195	»	»
» 19, rue Sambre-et-Meuse	1.300	2.195	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	13.410	83.300	T = 19°,5	»
» de la Seine à Ivry	2.500	61.730	T = 19 ,7	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	36.250	96.390	»	Haut. = 1m,00
» de la Seine au pont de l'Alma.	15.000	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	95.000	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	10.000	75.310	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, poste de Garennes.	5.000	»	»	»
» poste d'Herblay	10.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain d'Herblay.	2.500	»	»	»
» d'Asnières	125	1.570	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	13.250.000	18.050.000	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Juillet* 1897

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 26 du 28 juin au 3 juillet 1897	7.160	3.670	20°,6	26mm,0	N	11km,7	115	52
N° 27 » 4 juillet » 10 » »	5.830	2.500	17 ,8	1 ,8	W	13 ,3	130	61
N° 28 » 11 » » 17 » »	23.200	2.000	20 ,8	0 ,0	NE	13 ,7	159	55
N° 29 » 18 » » 24 » »	13.340	3.335	20 ,6	10 ,1	W	12 ,9	204	53
N° 30 » 25 » 31 » »	5.840	1.170	18,6	7 ,3	W	12 ,9	197	60
MOYENNES ET TOTAUX	11.075	2.540	19°,7	45mm,2	W	12km,9	805	281
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atropsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Juillet 1897. Bactéries = 4.400 Moisissures = 6.600 Température = 16°,6

Analyse de l'air au Passage Saint-Pierre

Juillet 1897. Bactéries = 5.930 Moisissures = 4.140 Température = 19°,7

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Juillet* 1897

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Juillet 1897	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge .	490	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant.	495	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust . . .	575	1.825	»	»
» 24, rue Saint-Sébastien	100	2.195	»	»
» 16, rue de la Victoire	500	2.195	»	»
» 124, rue Amelot	650	2.195	»	»
» 3, impasse Béaru.	1.300	2.195	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	4.960	83.300	T = 21°,6	»
» de la Seine à Ivry	7.500	61.730	T = 21 ,8	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	17.500	96.390	»	Haut. = 0m,90
» de la Seine au pont de l'Alma	26.250	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	690.000	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	5.000	75.310	»	»
4° Eaux de Puits de Paris				
Puits, 42, rue Poliveau	5.000	»	»	»
» 266, rue Saint-Jacques	112.500	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain d'Argenteuil	500	8.965	»	»
» d'Asnières.	1.500	1.570	»	»
6° Eaux d'Égout				
Eaux des collecteurs de Paris	10.500.000	18.050.000	»	»

Diagnostics effectués par le Laboratoire de bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois de juillet 1897

Le nombre total des diagnostics réclamés au Laboratoire de bactériologie en juillet 1897 s'est élevé à 183.

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	1	1	3	3	2	5	7
De 2 à 5 ans......	7	4	11	20	9	29	40
De 5 à 10 ans......	3	4	7	13	13	26	33
De 10 à 15 ans......	1	1	2	3	4	7	9
De 15 à 30 ans......	»	1	1	7	16	23	24
De 30 à 60 ans.....	1	»	1	3	2	5	6
De 60 et au-dessus ...	»	»	»	1	»	1	1
Age et sexe inconnus.	»	»	»	»	»	2	2
Totaux.........	13	11	24	50	46	98	122

Total des diagnostics	122
Angines diphtériques	24
Angines non diphtériques.................	98
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	19,6 p. 100

Pendant le mois de juillet de l'année 1897, il a été effectué 122 diagnostics d'angines douteuses, où l'analyse microscopique a décelé 24 fois le bacille de Loëffler, ce qui élève à 19,6 p. 100 la proportion des angines diphtériques observées pendant ce mois. Ce chiffre et sensiblement supérieur à celui (18,1 p. 100) qu'on avait obtenu au mois de juin dernier. Cette élévation du taux des angines diphtériques est dû à une aggravation légère et très momentanée du croup et des angines couenneuses observées dans la première quinzaine du mois de juillet. Dans la deuxième quinzaine de ce mois, le nombre des angines a repris sa marche décroissante.

Tuberculose

Sur les 61 diagnostics effectués en dehors des angines douteuses, 47 ont été relatifs à des produits soupçonnés tuberculeux, dans lesquels le bacille de Koch a été rencontré 17 fois.

Diagnostics effectués par le Laboratoire de bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois d'août 1897

Le nombre total des diagnostics réclamés au Laboratoire de bactériologie en août 1897 s'est élevé à 147.

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	1	2	3	4	5	9	12
De 2 à 5 ans......	5	»	5	12	13	25	30
De 5 à 10 ans......	2	4	6	8	10	18	24
De 10 à 15 ans......	»	2	2	2	5	7	9
De 15 à 30 ans......	»	»	»	5	5	10	10
De 30 à 60 ans......	»	»	»	1	1	3	3
De 60 et au-dessus. .	»	»	»	»	»	»	»
Age et sexe inconnus.	»	»	»	»	»	6	6
Totaux.........	8	8	16	33	39	78	94

Total des diagnostics	94
Angines diphtériques......................	16
Angines non diphtériques..................	78
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	17 p. 100

Durant le mois d'août 1897, il a été fait 94 diagnostics d'angines douteuses, parmi lesquels l'analyse microscopique a décelé seulement 16 fois le bacille de Loëffler, ce qui porte à 17 p. 100 la proportion des angines diphtériques observées pendant ce mois. Ce chiffre est notablement inférieur à celui (19,6) qui avait été obtenu en juillet de la même année. En 1896, le nombre des décès par la diphtérie observés à Paris pendant le mois d'août s'élevait à 29; en 1897, ce chiffre de décès est tombé pour le même mois à 12.

Tuberculose

Sur les 50 autres diagnostics réclamés au même laboratoire, 36 ont été relatifs à des produits soupçonnés tuberculeux, dans lesquels le bacille de Koch a été découvert 15 fois.

PUBLICATIONS RÉCENTES

Prof. M. Ogata. — Ueber die Pest-Epidemie in Formosa. Sur l'épidémie de peste à Formose (*Centralblatt für Bakteriologie*, première section, XXI, p. 769).

Dr Robert Behla. — Ueber das Vorkommen von Scharlach bei Thieren. La scarlatine chez les animaux (*Centralblatt für Bakteriologie*, première section, XXI, p. 777).

Dr W. Lembke. — Weiterer Beitrag zur Bakterienflora des Darmes. Nouvelle contribution à la connaissance de la flore bactérienne de l'intestin (*Archiv für Hygiene*, XXIX, p. 304).

E. Klein. — Ein Beitrag zur Morphologie und Biologie des Bacillus der Bubonenpest. Contribution à la morphologie et à la biologie du bacille de la peste bubonique (*Centralblatt für Bakteriologie*, première section, XXI, p. 897).

Dr Wasielewski. — Ueber die Form und Färbbarkeit der Zelleinschlüsse bei Vaccineimpfungen. De la forme et de la colorabilité des inclusions cellulaires dans les inoculations de vaccine (*Centralblatt für Bakteriologie*, XXI, p. 901).

G. — M. Sternberg. — Der Bacillus icteroides von Sanarelli (Bac. X. Sternberg). Le bacille ictéroïde de Sanarelli (Bac. X. de Sternberg) (*Centralblatt für Bakteriologie*, première section, XXII, p. 145).

Dr Albert Stolz. — Ueber einen Bacillus mit Verzweigungen. Sur un bacille avec des ramifications (*Archiv für Hygiene*, XXX, p. 156).

Prof. — Dr E. Levy. — Ein neues aus einem Fall von Lepra gezüchtetes Bacterium aus der Klasse der Tuberkel-Bacillen. Une nouvelle bactérie de la classe des bacilles de la tuberculose isolée d'un cas de lèpre (*Archiv für Hygiene*, XXX, p. 168).

J. Strasburger. — Ueber die Viruleuz der Diphterie in Bonn. Sur la virulence de la diphtérie, à Bonn (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXX, p. 389).

L'Éditeur-Gérant : C. NAUD.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

LES AGENTS MICROBIENS DE LA MATURATION DU FROMAGE D'EMMENTHAL

PAR

Ed. de FREUDENREICH (1)

Nos connaissances relatives à la maturation des fromages présentent encore, malgré les nombreuses recherches dont cette fermentation a déjà été l'objet, bien des lacunes. Les chimistes et les bactériologistes qui ont étudié cette fermentation spéciale, grâce à laquelle la pâte du fromage, au début sans goût et sans arome, acquiert peu à peu, dans les caves à fromage, cette consistance et ce goût particulier bien connu de tous ceux qui ont mangé un morceau de bon fromage d'Emmenthal ou de Gruyère, ont réussi à établir deux points principaux :

1° La maturation consiste dans une solubilisation et une décomposition des substances albuminoïdes du lait, et

2° Ces altérations sont dues à l'action des microbes.

A cet égard je me permets de renvoyer le lecteur à un travail publié ici-même (V. ces *Annales*, t. II, p. 257). Je rappelerai seulement que le rôle des bactéries dans la maturation du fromage est démontré par le fait qu'il n'y a pas de maturation lorsqu'on tue les bactéries présentes dans le fromage ou qu'on les empêche de s'y développer.

(1) Ce travail vient de paraître en allemand dans le t. XI du *Landw. Jahrbuch der Schweiz*.

Cependant on n'avait pas, jusqu'ici, réussi à déterminer quelles sont les bactéries qui produisent la maturation. Au début, on avait admis avec Duclaux, qui avait trouvé dans le fromage du Cantal des espèces bacillaires qui liquéfient la gélatine et produisent des altérations considérables dans le lait, que le rôle principal dans la maturation appartenait à ces espèces bactériennes qu'il avait appelées *Tyrothrix tenuis*, *T. distortus*, *T. filiformis*, etc., et qui, pour la plupart, rentrent dans le groupe des bacilles du foin. Mais, dans ces recherches, exécutées il y a plus de dix ans, Duclaux n'avait pu employer que la méthode du fractionnement dans le bouillon, avec laquelle il est beaucoup plus difficile d'isoler les différentes espèces microbiennes, d'autant plus que le bouillon n'est qu'un médiocre milieu de culture pour un grand nombre des microbes du lait, spécialement pour les ferments lactiques. D'autres expérimentateurs, venus plus tard et se servant de la méthode des plaques de gélatine, purent, au contraire, constater que le nombre de ces Tyrothrix dans le fromage est plutôt restreint, comparé surtout à celui des ferments lactiques. Ainsi, tandis qu'on ne trouve sur les plaques de gélatine que peu ou même point de colonies de ces bacilles liquéfiants, ce qui correspondrait à quelques centaines d'individus au plus, par gramme, on compte des millions de ferments lactiques, par gramme, dans le fromage en voie de maturation. Même en employant des méthodes favorisant la croissance de ces bacilles liquéfiants, presque tous munis de spores résistantes (gélatine alcaline, chauffage des émulsions de fromage à 80 degrés, ce qui tue les ferments lactiques, tandis que les spores de ces bacilles restent vivantes, etc.), les résultats restent identiques. Toujours, surtout quand la maturation fait des progrès, les Tyrothrix restent relativement peu nombreux, tandis que les ferments lactiques augmentent de nombre d'une manière fabuleuse; de plus, j'ai pu démontrer que, même lorsqu'on les inocule en quantités énormes dans un fromage frais, ils diminuent rapidement de nombre au lieu de se multiplier. Les nombreuses expériences également que j'ai faites en inoculant diverses espèces bactériennes dans des fromages (voir les différents volumes du *Landw.*

Jahrbuch der Schweiz), semblent prouver que les ferments lactiques favorisent la maturation, tandis que les bacilles liquéfiants n'exercent aucune action sur ce processus.

En outre de ces deux espèces bactériennes, on ne trouve, sauf un microcoque liquéfiant, toujours présent dans le lait et dans le fromage frais, mais qui disparaît rapidement de ce dernier, aucuns microbes dont la présence constante indiquerait une action sur la maturation. Pour ces motifs j'ai cru, il y a longtemps déjà, pouvoir émettre l'hypothèse que le rôle principal dans la maturation du fromage de l'Emmenthal appartenait aux ferments lactiques, à moins qu'il n'incombât à des espèces bactériennes non encore isolées, par exemple, à des anaérobies. Je ne me cache pas que cette hypothèse rencontre quelques difficultés, attendu que ce que nous savons des ferments lactiques peut nous faire présumer qu'ils s'attaquent principalement au sucre de lait et non pas à la caséine.

Dans les expériences que je vais exposer, j'ai d'abord cherché à contrôler mes précédentes recherches par de nouvelles analyses bactériologiques de fromages et par l'inoculation d'espèces bactériennes diverses dans des fromages ; j'ai ensuite cherché à démontrer que les ferments lactiques sont, en effet, capables d'attaquer la caséine, ce qui expliquerait leur multiplication si évidente dans les fromages en voie de maturation. Ce dernier point a fait l'objet d'une communication préliminaire dans ces *Annales* (t. IX, p. 185).

I

J'examinai un premier fromage spécialement au point de vue de la présence des anaérobies. Les plaques d'agar inoculées en surface étaient tenues dans une atmosphère d'hydrogène, sous une cloche de verre dont les bords étaient fermés avec de la paraffine ; souvent les émulsions de fromages étaient, avant d'être ensemencées, chauffées à 80 degrés pendant 5 minutes pour tuer les ferments lactiques d'habitude peu résistants, tandis que les anaérobies, généralement pourvus de spores, supportent ce traitement, et l'on ensemençait plusieurs gouttes de l'émulsion dans

des tubes d'agar liquéfié qu'on laissait refroidir ensuite. En même temps, les mêmes émulsions servaient à faire des plaques de contrôle aérobies sur agar et gélatine. Voici les résultats de ces analyses :

Analyse du 1er novembre 1895 (fromage du 10 octobre). — On ne trouve aucune espèce anaérobie vraie. Les plaques anaérobies donnent les mêmes ferments lactiques que les plaques aérobies et qui sont des anaérobies facultatifs, savoir un microcoque de forme ovale ou court bacille, probablement identique avec le bacille décrit par Leichmann comme l'agent de la coagulation spontanée du lait, ainsi que les bacilles que j'ai décrits dans de précédents travaux sous les noms de α, δ et ι. L'émulsion chauffée ne donna également pas d'anaérobies. En outre, quelques colonies, sur les plaques aérobies, d'un bacille semblant le *T. tenuis* et d'un autre bacille liquéfiant que j'ai assez souvent trouvé, quoique en nombre relativement peu considérable, dans les fromages frais et ressemblant au *B. megaterium*. Je l'ai appelé Bacille I.

Analyse du 18 *novembre* 1895. — Aucuns anaérobies vrais. Ferments lactiques. Bac. I et *T. tenuis* en petit nombre.

Analyse du 10 *décembre* 1895. — Même résultat.

Analyse du 20 *décembre* 1895. — Même résultat.

Analyse du 15 *janvier* 1896. — Même résultat. Les bacilles liquéfiants deviennent toujours plus rares.

Analyse du 22 *janvier* 1896. — De nouveau pas d'anaérobies vrais. Nombreux ferments lactiques. Peu d'espèces liquéfiantes.

Cette analyse donne les mêmes résultats que celles que j'avais faites précédemment. Nombreux ferments lactiques, tandis que les bacilles liquéfiants y étaient rares. Aucun anaérobie vrai n'y fut trouvé ; il ne semble donc guère probable que la maturation soit due à des anaérobies absolus incapables de croître en présence de l'air, à moins d'admettre qu'ils ne se développent pas sur nos milieux de culture, ce qui, toutefois, paraît peu probable, car j'ai souvent mélangé l'agar employé pour les plaques en surface avec du lait stérilisé (L'agar à 2 p. 100 et le lait sont stérilisés séparément, puis versés dans une boîte de Petri ; on obtient ainsi une plaque de couleur laiteuse que l'on ensemence en surface). Ce milieu, si semblable au fromage, ne m'a toutefois pas donné de meilleurs résultats. Cependant les anaérobies ne sont pas complètement absents du fromage,

car si l'on tient une émulsion de fromage à 37 degrés, on la voit, après quelques jours, se peupler de formes en clostridium et dégager une très mauvaise odeur; on peut alors en isoler un bacille anaérobie identique au *Bac. œdematis maligni.* On constate également la pullulation des bacilles liquéfiants qui, en consommant l'oxygène, permettent aux anaérobies présents, probablement sous forme de spores, de se développer. Il n'est d'ailleurs pas étonnant que quelques bacilles de l'œdème malin puissent se trouver dans le fromage, ou que le lait, souvent contaminé par les matières fécales de la vache, toujours très riches en bacilles de l'œdème malin, contient constamment ce microorganisme. Mais ils ne paraissent pas se développer dans le fromage, ni contribuer à sa maturation. C'est, du reste, ce que montreront les expériences d'inoculation dont je parlerai plus loin.

II.

J'examinai un second fromage, fabriqué à l'école de laiterie de la Rütti, le 19 mars 1896, spécialement au point de vue de la présence de bacilles liquéfiants pendant toute la durée de sa maturation (plaques de gélatine ensemencées avec 10-20 gouttes d'une émulsion de fromage préparée avec 0,2 gramme de fromage dans 5 centimètres cubes d'eau stérilisée et chauffée 5 minutes à 80 degrés). Voici les résultats de cette analyse :

6 *avril* 1896. — 90 colonies de bacilles liquéfiants du genre des *Tyrothrix tenuis* par gramme; un second morceau du même fromage, conservé quelques jours en chambre, en donne 40.

11 *avril* 1896. — 40 colonies du bacille 1.

20 *avril* 1896. — 285 colonies d'un bacille liquéfiant genre *Tyrothrix tenuis.*

27 *avril* 1896. — 42 colonies d'un bacille liquéfiant genre *Tyrothrix tenuis.*

8 *mai* 1896. — 50 colonies d'un bacille liquéfiant genre *Tyrothrix tenuis.*

27 *mai* 1896. — 62 colonies d'un bacille liquéfiant genre *Tyrothrix tenuis.*

13 *juin* 1896. — 45 colonies d'un bacille liquéfiant genre *Tyrothrix tenuis.*

Les plaques de contrôle (émulsion non chauffée) donnèrent comme d'habitude un très grand nombre de ferments lactiques. La légère multiplication apparente du 20 avril provient vraisemblablement de ce que ce jour un morceau un peu plus riche en bacilles avait fait l'objet de l'analyse, et les chiffres sans cela régulièrement très bas indiquent que ces bacilles liquéfiants n'ont pas augmenté de nombre pendant la maturation, et qu'ils n'y ont probablement mené qu'une vie latente à l'état de spores.

III.

J'avais déjà précédemment constaté que, lorsqu'on ajoute au lait dont on fait un fromage des bacilles liquéfiants, ceux-ci disparaissent rapidement. Je refis cependant une série d'expériences relativement à ce point spécial. En voici les résultats :

Le 10 avril 1896, on fait un fromage avec 10 litres de lait pasteurisé auquel on a ajouté 100 centimètres cubes de culture du bacille 1. Pour ce fromage et les suivants, les numérations furent pratiquées sans chauffage préalable de l'émulsion (plaques de gélatine).

De suite, après sa fabrication, ce fromage donna le chiffre de......................	700.000	col. du bac. 1 par gramme
5 jours plus tard..........	200.000	—
15 — —	30.000	—
4 semaines —	24.230	—

Un second fromage fut fabriqué avec du lait non pasteurisé et inoculé de la même manière :

De suite, après sa fabrication.	plaque liquéfiée	
5 jours plus tard............	1.000	col. du bac. 1 par gramme
15 — —	8.000	—
4 semaines —	3.000	—

Dans cette expérience, la fluidification de la plaque rendit la première numération impossible, mais le nombre initial des bacilles inoculés a dû être très considérable, ainsi que le prouve la liquéfaction si rapide de la plaque. Le résultat des numérations effectuées dans la suite montre que, dans les fromages fabriqués avec du lait non pasteurisé, la disparition des bacilles liquéfiants

est très rapide, probablement à cause de la concurrence des ferments lactiques.

Chez un troisième fromage, également fait avec du lait non pasteurisé et inoculé avec 100 centimètres cubes de culture de bouillon du bacille 1, les numérations pratiquées après chauffage préalable de l'émulsion de fromage employée pour l'ensemencement à 80 degrés pendant 5 minutes, donnèrent les résultats suivants :

8 jours après la fabrication.......	250 col. du bac. 1	par gramme
2 semaines —	150	—
4 — —	300	—
6 — —	100	—
2 mois —	50	—

Ici, aussi, les bacilles inoculés n'augmentent pas de nombre; les colonies proviennent vraisemblablement des spores ayant résisté au chauffage.

Un quatrième fromage avait été inoculé avec une autre espèce de bacilles liquéfiants isolés d'un fromage en voie de maturation. Les numérations donnèrent les résultats suivants :

De suite après la fabrication.........	3.500	colonies du bacille
Après 8 jours......................	500	—
— 2 semaines..................	500	—
— 4 —	plaque stérile	
— 6 —	1.150	colonies du bacille
— 2 mois......................	800	—

Ces quatre expériences prouvent à nouveau le fait que mes expériences précédentes avaient déjà montré, savoir que ces bacilles liquéfiants de la famille des Tyrothrix, loin de se multiplier dans le fromage, y diminuent, au contraire, rapidement de nombre. Ils ne semblent donc jouer aucun rôle dans la maturation.

Si je ne craignais de fatiguer le lecteur, je pourrais citer encore des séries d'autres analyses exécutées d'une manière systématique pendant toute la durée de la maturation de nombreux fromages. Je dirai seulement que constamment les résultats furent identiques : Prépondérance des ferments lactiques, nombre relativement très peu élevé des espèces liquéfiantes, absence ou présence très rare d'anaérobies.

IV.

Je fis aussi un certain nombre de fromages d'essai avec du lait pasteurisé et inoculé avec diverses espèces bactériennes, en vue d'étudier l'action de celles-ci sur la maturation. Les cultures étaient ajoutées au lait au moment d'y verser la présure. Chaque fois, je faisais en même temps un fromage de contrôle auquel on n'ajoutait pas de bactéries. Voici les résultats donnés par ces expériences :

3 *mars* 1896. — Ensemencement de 130 centimètres cubes de culture de bouillon du bacille anaérobie (*Bac. œdem. maligni*). Le 26 juin, la maturation du fromage inoculé est à peine sensible ; le goût en est mauvais. Pas de maturation dans le fromage de contrôle (Les fromages faits avec du lait pasteurisé ne mûrissent généralement pas ou mal).

1er *avril* 1896. — Ensemencement de 100 centimètres cubes de culture du même bacille. Le 15 juin, aucune maturation ni dans le fromage de contrôle, ni dans le fromage inoculé. Ce dernier a mauvais goût.

2 *avril* 1896. — Ensemencement de 130 centimètres cubes de culture du bacille 1 (le bacille liquéfiant aérobie dont j'ai parlé plus haut). Le 15 juin, mauvais goût, pas de maturation, le fromage de contrôle n'est également pas mûri.

4 *avril* 1896. — Ensemencement de 100 centimètres cubes de culture du bacille 1 et de 100 centimètres cubes du bacille anaérobie. Le 15 juin, mauvais goût et pas de maturation. Pas de maturation non plus dans le fromage de contrôle.

7 *avril* 1896. — Ensemencement de 100 centimètres cubes de culture du bacille 1. Le 15 juin, aucune maturation. Il en est de même du fromage de contrôle.

8 *avril* 1896. — Ensemencement de 100 centimètres cubes de culture du bacille 1. Le 16 juin, mauvais goût, pas de maturation. Le fromage de contrôle n'a pas non plus mûri.

9 *avril* 1896. — Ensemencement de 400 centimètres cubes de culture du bacille 1. Le 16 juin, mauvais goût et pas de maturation. Le fromage de contrôle n'a pas mûri. Dans cette expérience, la quantité des bacilles ensemencés est formidable, car, dans une autre expérience, un fromage inoculé avec 100 centimètres cubes seulement contenait 700.000 bacilles par gramme de suite après sa fabrication. Le fromage du 9 avril en aurait donc contenu 2.800.000 par gramme. Le manque de maturation prouve que cette espèce liquéfiante n'a rien à faire avec ce processus. Dans les expériences suivantes, j'ajoutai alors des ferments lactiques.

11 *avril* 1896. — Ensemencement de 100 centimètres cubes de culture du bacille 1 et de 100 centimètres cubes de culture du microcoque ovale, un ferment lactique toujours présent dans le fromage. Le 23 juin le fromage de contrôle n'a pas mûri. Le fromage inoculé paraît plus mûr sans être cependant aussi bon que les fromages des 14 et 18 avril.

14 *avril* 1896. — 100 centimètres cubes de culture du bacille 1 et même quantité du microcoque ovale. Le 6 juin, le goût du fromage de contrôle n'accuse aucune maturation ; le fromage inoculé a certainement le goût d'un fromage mûr et est tout à fait bon. Les plaques donnent des colonies du bacille 1 et de nombreuses colonies du ferment lactique.

15 *avril* 1896. — 100 centimètres cubes du bacille anaérobie et autant du bacille 1 et du microcoque ovale. Le 23 juin, le fromage de contrôle a légèrement mûri. Dans cette expérience, le lait, malgré la pasteurisation, contenait encore beaucoup de bactéries. Chez le fromage inoculé, la maturation est plus avancée, le goût en est aussi meilleur.

18 *avril* 1896. — Même expérience que le 15. Le 23 juin, le fromage ensemencé a bien mûri. Goût bien meilleur que chez le fromage de contrôle qui, cependant, a aussi un peu mûri. Le bacille liquéfiant inoculé ne fut plus retrouvé sur les plaques.

1er *juillet* 1896. — Ensemencement de 250 centimètres cubes de culture du microcoque ovale. Le 28 août, assez bonne maturation, tandis que le fromage de contrôle n'a presque pas mûri.

2 *juillet* 1896. — Même expérience. Le 28 août, bonne maturation et bon goût. Le fromage de contrôle n'a presque pas mûri.

3 *juillet* 1896. — Ensemencement de 500 centimètres cubes de culture du microcoque ovale. Le 27 août, très bonne maturation. Le fromage de contrôle ne put malheureusement pas être examiné, ayant disparu.

4 *juillet* 1896. — Même expérience. Bonne maturation le 31 août, tandis que le fromage de contrôle n'a pas mûri.

6 *juillet* 1896. — 250 centimètres cubes du microcoque ovale et autant du bacille 1. Bonne maturation à l'examen le 21 octobre. Le fromage de contrôle n'a pas le goût d'un fromage mûr. Les plaques donnent un grand nombre de colonies du ferment lactique et une seule colonie du bacille 1. Celui-ci a donc partiellement disparu.

7 *juillet* 1896. — Même expérience que le 6 juillet. Assez bonne maturation du fromage d'essai le 21 octobre, quoique moins prononcée que celle du précédent fromage. Le goût ne révèle pas de maturation chez le fromage de contrôle.

8 *juillet* 1896. — Adjonction de 250 centimètres cubes de culture du microcoque ovale et de 250 centimètres cubes de culture d'un bacille liquéfiant, genre *Tyrothrix tenuis* Duclaux, isolé

d'un fromage de l'Emmenthal. Le 21 octobre, on constate un peu de maturation, mais le fromage a mauvais goût. Le fromage de contrôle avait été mangé à l'intérieur par des vers.

9 *juillet* 1896. — Même expérience que le 8 juillet. Le 21 octobre, on constate de la maturation, mais aussi le même mauvais goût, quoique moins prononcé, des fromages précédents. Le fromage de contrôle était boursouflé et n'avait pas le goût des fromages arrivés à maturité.

15 *juillet* 1896. — Ensemencement de 500 centimètres cubes de culture du même bacille liquéfiant que les 8 et 9 juillet, mais sans adjonction de ferments lactiques. Le 21 octobre, très mauvais goût, pas de maturation. Le fromage de contrôle, non plus, n'a pas mûri. On retrouve, sur les plaques, de nombreuses colonies du bacille ensemencé.

On fit encore une expérience en grand avec le bacille 1, en ajoutant un litre de culture à un fromage fabriqué à la Rütti, le matin du 26 avril 1896. Après 10 semaines, ce fromage avait mûri normalement, mais rien ne le distinguait des autres fromages fabriqués à la même époque. Il ne fut pas possible de retrouver le bacille 1 sur les plaques.

Toutes ces expériences semblent indiquer que les ferments lactiques jouent le rôle principal dans la maturation du fromage, car, lorsqu'on n'ajoutait que des bacilles liquéfiants, la maturation ne se produisait pas, tandis que lorsque les ferments lactiques avaient été ensemencés seuls ou conjointement avec ceux-ci, la maturation se faisait.

On peut, il est vrai, faire quelques objections à ces expériences. Ainsi, la pasteurisation ne suffit pas pour purger le lait de tous ses microbes ; les laits riches en bactéries en contiennent, en effet, souvent de suite après la pasteurisation, encore quelques centaines par centimètre cube ; on pourrait donc dire que la maturation était due à d'autres bactéries qu'à celles qui avaient été ensemencées artificiellement ; mais, dans ce cas, les fromages de contrôle auraient également dû mûrir, ce qui, généralement, n'arrivait pas.

On pourrait aussi objecter que le degré de maturation de mes fromages n'a pas été déterminé d'une manière scientifique, mais seulement par dégustation, et que, par conséquent, ces expériences ne sont pas probantes. J'avoue

volontiers qu'une analyse chimique complète des fromages, pour laquelle le temps m'a manqué, aurait eu une tout autre valeur; cependant, les phénomènes de maturation peuvent aussi se reconnaître au goût, de manière à permettre, jusqu'à un certain point, des conclusions certaines. Bien que ces expériences ne soient donc pas absolument probantes, on ne saurait, cependant, leur refuser une valeur au moins relative.

V.

Une dernière série de fromages d'essai fut encore faite avec du lait recueilli aussi aseptiquement que possible au lieu de lait pasteurisé, attendu que la pasteurisation n'élimine par les bacilles liquéfiants généralement très résistants. La meilleure manière de se procurer un lait aseptique serait de le traire avec une machine à traire, après désinfection préalable de celle-ci et en prenant la précaution de ne pas recueillir les premières parties du lait, afin de bien nettoyer les trayons des microbes qui s'y trouvent toujours. Ce procédé serait, toutefois, un peu compliqué, et ne serait applicable que dans un laboratoire qui aurait quelques vaches à son entière disposition. Je me suis, par conséquent, borné à faire traire le lait aussi proprement que possible dans des récipients stérilisés. Le ventre de la vache était recouvert d'une large ceinture de toile stérilisée, pour empêcher la chute des poils et des poussières adhérentes à ceux-ci. Le pis était soigneusement lavé avec de l'eau stérilisée, puis graissé, ainsi que les mains préalablement désinfectées de la personne chargée de la traire, avec du saindoux stérilisé. Le lait était trait, aussi rapidement que possible, dans un entonnoir stérilisé, dont le bout pénétrait dans un récipient de ferblanc stérilisé à la vapeur. Dès que 10 litres environ avaient été ainsi recueillis, le lait était transporté au laboratoire, ensemencé avec les bactéries que l'on voulait étudier et servait à faire un fromage, soit de suite, soit après 12 heures seulement, afin de donner aux bactéries inoculées le temps de se multiplier. La présure (6-8 tablettes

de Hansen dissoutes dans 500 centimètres cubes d'eau) était stérilisée par le filtre Chamberland. On stérilisait aussi par la vapeur la chaudière à fromage et tous les instruments servant à la confection du fromage. Bref, on prenait toutes les précautions possibles pour écarter toutes les bactéries, sauf celles qui étaient ensemencées. Pour éviter d'infecter les fromages, en les salant dans la suite, j'ajoutais déjà pendant la fabrication 1 p. 100 de sel. Je dois toutefois avouer que, malgré toutes ces précautions, le lait ainsi recueilli était encore loin d'être stérile. Sa teneur en bactéries, à l'arrivée au laboratoire, oscillait entre 92 et 500 bactéries par centimètre cube. Mais on n'y trouvait que rarement des bacilles liquéfiants et, en général, seulement le microcoque ovale et le microcoque liquéfiant. A ce point de vue, ces expériences ne sont pas non plus absolument probantes, puisque le lait n'était pas parfaitement stérile. Cependant, le nombre des bactéries qu'il contenait était si minime, comparé à celui des bactéries ensemencées (généralement 200 centimètres cubes de culture), qu'il n'a guère d'importance. Des expériences de ce genre ne seront, toutefois, absolument concluantes, que lorsqu'on réussira, par exemple, au moyen d'une machine à traire, à recueillir un lait tout à fait stérile. Je crois cependant, telles qu'elles sont, bien faire d'en adjoindre les résultats à ceux fournis par les fromages faits avec du lait pasteurisé. Le fait surtout, que les bacilles liquéfiants, grâce aux précautions observées, étaient presque entièrement absents de ce lait, — il fut souvent impossible d'en trouver un seul, — les rend précieuses à mes yeux. Après leur fabrication, ces fromages étaient enveloppés de linges stérilisés et mis sous presse ; après y être restés environ 24 heures, ils étaient placés sur une plaque de verre flambée et recouverts d'une cloche en verre également flambée.

Malgré ces précautions, quelques moisissures firent leur apparition ; celles-si furent alors enlevées et les fromages plongés à plusieurs reprises dans de la paraffine liquéfiée, de manière à ce qu'ils se recouvrissent, après refroidissement, d'une couche de paraffine solide. Dans quelques cas, ce moyen réussit à empêcher toute végéta-

tion bactérienne à la surface des fromages, dans d'autres, il provoqua la croissance dans les couches supérieures des fromages d'un bacille anaérobie que je crus pouvoir identifier avec le bacille de l'œdème malin. On verra, cependant, que cette désagréable apparition n'a pas vicié les résultats des expériences. Trois mois plus tard, les fromages furent examinés et soumis à une analyse bactériologique. Voici les résultats de ces expériences :

Fromage du 30 *octobre.* — Le lait, trait le 30 octobre au soir, est ensemencé de suite après la traite avec 200 centimètres cubes de culture de bouillon du microcoque ovale, le ferment lactique ordinaire du lait, et laissé, pendant la nuit, à la température de la chambre. Le lendemain, on en fait un fromage que l'on conserve, comme il a été dit plus haut, à 20 degres. On l'examine le 27 janvier 1897. Sous la couche de paraffine, le fromage est recouvert d'un enduit graisseux, grisâtre, de mauvaise odeur qui ne pénètre, toutefois, pas profondément; l'intérieur du fromage est d'un beau jaune comme celui d'un fromage normal, avec quelques yeux. L'enduit grisâtre contient le bacille anaérobie sus mentionné mais aucun bacille aérobie liquéfiant. Le bacille anaérobie ne se trouve pas dans l'intérieur dans ce dernier on ne trouve que le microcoque ovale; impossible de trouver un seul bacille liquéfiant, même en chauffant l'émulsion du fromage à 80 degrés pendant 5 minutes et en en inoculant 1/2 centimètre cube dans les plaques. Le goût de l'intérieur du fromage est tout à fait celui d'un fromage bien mûri, quoique peu salé. Le fait que la couche grisâtre contenant le bacille anaérobie avait un goût détestable montre bien que ce bacille n'était pour rien dans la maturation des parties centrales du fromage.

Fromage du 2 *novembre* 1896. — Le lait trait le soir précédent est ensemencé de suite avec 100 centimètres cubes de culture du microcoque ovale et une quantité égale du microcoque liquéfiant qui se trouve toujours dans le lait et dans le fromage frais. Le lendemain matin, on en fait un fromage. L'analyse bactériologique du lait, faite de suite après la traite, avait fait constater la présence du ferment lactique habituel, du microcoque *a* (aussi un ferment lactique dont j'ai donné la description dans de précédents travaux) et du microcoque liquéfiant.

Le fromage est examiné le 23 janvier 1897; sous la couche de paraffine on trouve quelques taches grisâtres renfermant le bacille anaérobie et l'*Oïdium lactis*, mais pas de bacilles liquéfiants. A part ces quelques taches, le fromage a une apparence normale; peu de trous, le goût, quoique peu salé, est celui d'un fromage mûr. Les

plaques donnent surtout le microcoque ovale, mais aussi le microcoque α et une colonie du microcoque liquéfiant. Pas de bacilles anaérobies, sauf dans les taches grises précitées.

Fromage du 4 novembre 1896. — Le lait trait le matin sert à faire un fromage sans ensemencement de bactéries, à titre de contrôle. Le lait ne contenait que 46 colonies par centimètre cube dont une d'un bacille liquéfiant. Le fromage est examiné le 22 janvier 1897. Sous la paraffine on le trouve recouvert d'une couche grisâtre plus épaisse que dans les autres fromages et contenant le bacille anaérobie ainsi que l'*Oïdium lactis*, et aussi le microcoque ovale, mais pas de bacilles liquéfiants. La couche grisâtre a pénétré assez profondément, ce que j'attribue au fait que ce fromage était, au début, très pauvre en ferments lactiques, qui, par conséquent, n'ont pas pu s'opposer à l'invasion du bacille anaérobie, venu certainement de l'extérieur. L'intérieur était jaunâtre, mais n'avait pas la consistance habituelle du fromage mûr et ressemblait à du caoutchouc. Le goût était légèrement mûri, mais très mauvais, analogue à celui de la couche grisâtre envahie par le bacille anaérobie. L'analyse bactériologique révéla la présence du microcoque ovale, mais le bacille anaérobie et les bacilles liquéfiants manquaient absolument dans l'intérieur. Ici nous ne trouvons donc d'indices de maturation que dans les parties dans lesquelles le ferment lactique avait pu se développer. On se rappelle qu'il se trouvait à l'origine dans le lait, mais en petite quantité.

Fromage du 7 novembre 1896. — Le lait, trait la veille au soir, est tenu pendant la nuit à environ 0 degré. Le lendemain on en fait un fromage après y avoir ensemencé 600 centimètres cubes de culture de bacille liquéfiant genre *Tyrothrix tenuis* isolé d'un fromage en voie de maturation. Ce fromage aussi se recouvre d'un enduit grisâtre et puant, contenant le bacille anaérobie et l'*Oïdium lactis*, ainsi que des ferments lactiques. L'intérieur est aussi devenu grisâtre ; on en isole de nombreuses colonies du bacille liquéfiant et aussi des ferments lactiques, l'intérieur a très mauvais goût ; il semble ici que le bacille liquéfiant, joint au bacille anaérobie, n'ait fait qu'altérer le goût du fromage, sans aucunement le mûrir. Les ferments lactiques qui s'y sont spontanément développés n'ont pu empêcher cette action néfaste.

Fromage du 10 *novembre* 1896. — Le soir précédent, le lait avait été ensemencé avec 700 centimètres cubes de culture du microcoque ovale et du bacille α (également un ferment lactique). On examine ce fromage le 26 janvier 1897 ; dans la paraffine on retrouve de nouveau une couche grisâtre avec le bacille anaérobie. Mais l'intérieur est d'un brun jaune, avec quelques trous. Le goût, peu salé, est celui d'un fromage arrivé à maturité. On n'y trouve que

des ferments lactiques. Ici de nouveau, maturation qui ne s'explique que par l'action des ferments lactiques.

Toutes ces expériences semblent de nouveau indiquer que la maturation est liée à la présence de ferments lactiques, à l'exclusion des tyrothrix, qu'il a été impossible de déceler dans ces fromages. Il est fâcheux que des anaérobies se soient développés sous la paraffine, mais on voit bien que leur rôle était nul dans la maturation, vu qu'ils manquaient totalement dans les parties mûries de l'intérieur. Ils semblent, au contraire, là où ils se développent, donner un fort mauvais goût à la pâte. Peut-être vaudrait-il mieux, si l'on renouvelait ces expériences, renoncer à l'emploi de la paraffine et se borner à laver les fromages avec une solution salée stérilisée en les tenant sous une cloche de verre. Quoi qu'il en soit, les résultats de ces expériences m'ont paru mériter d'être mentionnés.

VI.

Ces nombreuses expériences m'avaient toujours plus convaincu que les agents de la maturation du fromage devaient être cherchés parmi les ferments lactiques; mais elles n'établissaient pas ce fait avec certitude, car on pouvait toujours dire que la maturation était l'œuvre de ferments restés inconnus. Il me fallait, avant tout, prouver que les ferments lactiques sont capables d'attaquer non seulement, ainsi qu'on l'admet généralement, le sucre de lait, mais aussi la caséine. Ce qui semble parler contre cette dernière hypothèse, c'est le fait que les ferments lactiques inoculés dans le lait le font cailler, mais ne l'altèrent pas autrement dans la suite. Ceci, toutefois, ne proviendrait-il pas de ce que l'action ultérieure des ferments lactiques est entravée par l'acide produit? Je cherchai donc d'abord à entraver l'effet de ce dernier sur les cultures. Pour cela, j'ensemençai du lait maigre avec des ferments lactiques isolés du fromage, après l'avoir additionné de craie (le lait et la craie sont stérilisés ensemble dans de grands ballons à l'autoclave), et j'agitai fréquemment les cultures pour neutraliser l'acide produit. Après quelques se-

maines à l'étuve, je recherchai alors si la caséine du lait n'avait pas subi l'altération que l'on peut considérer comme une première phase de la maturation et qui consiste à ce qu'elle devienne soluble et filtrable à travers la porcelaine (1). C'est sur ce phénomène, on le sait, qu'est précisément basée la méthode d'analyse des fromages employée par M. Duclaux. Après avoir montré, en effet, que dans le lait la caséine est en majeure partie (les 9/10 environ) en suspension, et qu'en filtrant du lait à la bougie Chamberland on ne retrouve dans le filtratum que le dixième de la matière albuminoïde totale, c'est-à-dire celle qui se trouve en dissolution dans le lait. M. Duclaux a constaté que l'extrait aqueux d'un fromage arrivé à maturation filtré à la bougie contenait beaucoup plus de substances albuminoïdes qu'au début, et il a appelé *rapport de maturation* la quantité de matière filtrable au travers de la porcelaine et la quantité de caséine totale existant dans le fromage. Les travaux de Schulze et de Bondzynski (*Landw Jahrbücher der Schweiz*, 1887 et 1894) ont également confirmé ce fait.

Je filtrai donc mes cultures à la bougie, et je déterminai la teneur en azote du filtratum d'après la méthode de Kjeldahl, en même temps que celle du filtratum d'un lait de contrôle non ensemencé avec des ferments lactiques. Si le filtratum du lait ensemencé était plus riche en azote que celui du lait de contrôle, il devenait clair que la matière albuminoïde était devenue soluble sous l'action de ces bactéries. J'opérai chaque fois avec 25 centimètres cubes du filtratum. La pureté des cultures était naturellement toujours contrôlée.

J'avais trois espèces de cultures, âgées de trois mois environ, à ma disposition :

Deux ballons de lait écrémé (les ballons contenaient environ 500 mètres cubes de liquide), ensemencés avec le microcoque ovale déjà mentionné ;

Un ballon ensemencé avec un bâtonnet isolé d'un fromage d'Emmenthal, aussi un ferment lactique.

Deux ballons, enfin, ensemencés avec le bacille α (fer-

(1) J'ai publié dans le tome IX de ces *Annales* (p. 185), une communication préliminaire sur ce sujet.

ment lactique que j'ai précédemment décrit) et le bâtonnet susmentionné.

J'appellerai ces cultures A, B et C. Dans le filtratum de deux laits de contrôle de même origine, non ensemencé, et tenus également à l'étuve pendant trois mois, je trouvai 0,034 p. 100 et 0,031 p. 100 d'azote, ce qui correspondrait à une teneur de 0,227 et 0,209 p. 100 de caséine (par multiplication avec le facteur de la caséine proposé par M. E. Schulze, soit 6,557). Avec d'autres laits de contrôle analysés plus tard, j'obtins des chiffres variant entre 0,027 p. 100 et 0,042 p. 100. La moyenne de mes analyses donnerait 0,033 p. 100 d'azote dans le lait filtré.

Or, la culture C, également filtrée, donna, pour le premier ballon, 0,179 p. 100 d'azote et, pour le second ballon, 0,152 p. 100; en moyenne donc 5,1 fois plus d'azote que dans le filtratum du lait non ensemencé. Rapportés à la matière albuminoïde, ces chiffres correspondraient à 1,178 et 0,996 p. 100. Nous verrons, toutefois, plus tard, que l'azote de ces substances solubles ne représente pas seulement la matière albuminoïde, mais aussi ses produits de décomposition.

Dans le filtratum de la culture B, je trouvai 0,191 p. 100 d'azote, soit 6,4 fois plus que dans le lait de contrôle.

La culture A donna des résultats moins marqués, 0,044 p. 100 d'azote pour le premier ballon, et 0,111 p. 100 d'azote pour le second ballon, soit, en moyenne 2,4 fois plus que dans le lait de contrôle.

La réaction de ces cultures n'était pas acide, mais plutôt neutre ou légèrement alcaline. Le contenu des cultures B et C était brunâtre, celle de la culture A jaune-pâle comme celle du filtratum du lait de contrôle. L'odeur et le goût de ces laits filtrés étaient très particuliers et aromatiques, absolument différents du filtratum du lait de contrôle.

Ces expériences montrent que sous l'action des ferments lactiques une partie de la caséine est devenue soluble et filtrable. Peut-être pourrait-on penser que ce phénomène était dû non pas à l'action directe des bactéries, mais à

celle de l'acide lactique produit. Celui-ci, il est vrai, était neutralisé par la craie déposée au fond des ballons que l'on agitait fréquemment, mais, l'acide se produisant au fur et à mesure, on pourrait supposer qu'il avait le temps d'agir sur la caséine.

Pour élucider cette question, j'additionnai du lait avec 0,5 — 1 et 2 p. 100 d'acide lactique, et le tins pendant quelque temps à l'étuve. Je filtrai alors, après quelques jours, une partie du lait additionné de 2 p. 100 d'acide lactique et dosai l'azote du filtratum ; il y en avait 0,034 p. 100 et, dans le lait filtré de contrôle, 0,031 p. 100 ; la différence, on le voit, peut être considérée comme nulle, car elle se tient dans les limites des erreurs d'expérience. Le lait additionné de 1 p. 100 d'acide lactique fut filtré et analysé après 5 semaines ; il contenait aussi 0,034 p. 100 d'azote. Celui additionné de 0,05 p. 100, également analysé et filtré après 5 semaines, donna 0,027 p. 100 d'azote. Il est donc évident que l'acide lactique n'est pour rien dans l'altération de la caséine constatée dans mes cultures.

La maturation du fromage ne consiste toutefois pas uniquement dans le fait que la caséine devient soluble, mais on voit aussi se produire, pendant ce processus, des corps azotés qui ne sont pas des substances albuminoïdes et qui manquent dans le fromage frais ; ce sont de véritables produits de décomposition de la matière albuminoïde. Si je pouvais réussir à démontrer qu'une partie de « l'azote soluble » de mes cultures se rapportait à des substances non albuminoïdes, la preuve était alors faite que les ferments lactiques ensemencés avaient été capables non seulement de rendre la caséine soluble, mais encore de la décomposer véritablement.

Je préparai, en conséquence, une grande quantité de cultures de différents ferments lactiques, isolés du fromage, dans du lait additionné de craie et les analysai de la manière suivante après quelques semaines passées à l'étuve. Le lait était d'abord, comme précédemment, filtré à la bougie Chamberland, après quoi je dosai l'azote du filtratum dans 25 centimètres cubes. Dans 50 autres centimètres cubes je commençai par précipiter avec de l'acide sulfurique

dilué (1 à 3) le lactate de chaux produit (1), puis je filtrai sur papier. Quand on lave bien le filtre, il ne reste dans ce dernier que des traces d'azote, ainsi que j'ai pu m'en convaincre par des expériences de contrôle (dans une expérience, par exemple, 0,00048 N p. 100). Dans ces 50 centimètres cubes je précipitai alors les substances albuminoïdes par l'acide phospho-tungstique (2), et je dosai ensuite l'azote tant dans le résidu de filtration que dans le filtratum ainsi débarrassé des substances albuminoïdes. On obtient ainsi l'azote des matières albuminoïdes restées sur le filtre et l'azote des produits de décomposition proprement dits de la matière albuminoïde du lait (amides). Il faudrait déduire de ce dernier la part revenant à l'ammoniaque qui a pu être formé, mais celui-ci ne se trouve qu'en si petites quantités que l'on peut en faire abstraction.

Je fais suivre ici les résultats de ces expériences en me réservant de décrire plus tard, avec plus de détails, les microorganismes qui ont été employés. Le lait servant aux cultures était du lait écrémé qui, filtré à la bougie Chamberland, donne en moyenne, ainsi qu'il a été dit plus haut, 0,033 p. 100 d'azote. Toujours on contrôlait la pureté des cultures.

1. Culture de lait du bacille α, âgée de 7 semaines :

Réaction : acide.

Goût : le goût particulier de ces cultures dont j'ai parlé plus haut.

I. Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,20104 p. 100
II. Après traitement par l'acide phospho-tungstique :	
a. Teneur en azote du résidu de filtration.......	0,03556 —
b. Azote des amides.........................	0,16632 —
Ensemble......	0,20188 p. 100

Une seconde culture de 13 semaines donna un résultat tout pareil. Il semble donc qu'en 7 semaines le bacille α avait épuisé son action.

(1) Il n'est pas absolument nécessaire de précipiter le lactate de chaux, mais cela facilite les opérations subséquentes.

(2) On commence par ajouter 50 centimètres cubes d'acide sulfurique dilué (1 à 5), puis on ajoute l'acide phospho-tungstique jusqu'à ce qu'il ne se produise plus aucun précipité. On filtre et on lave avec de l'acide sulfurique à 5 p. 100 jusqu'à ce qu'on ait 500 centimètres cubes. Le liquide est alors évaporé puis traité d'après la méthode de Kjeldahl.

2° Culture de lait du bacille ε, âgée de 1 1/2 mois :

Le bacille ε est un bacille allongé, souvent courbée, que j'ai presque toujours trouvé dans les fromages d'Emmenthal. C'est un ferment lactique qui caille le lait. Je n'ai pu l'isoler que sur les plaques d'agar, car il ne croît pas sur la gélatine.

Réaction : presque neutre.
Goût : il semble y avoir l'arome du fromage.

I. Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,11816	p. 100
II. Après traitement par l'acide phospho-tungstique :		
a. Teneur en azote du résidu de filtration.......	0,02408	—
b. Azote des amides..........................	0,09912	—
Ensemble...............	0,12320	p. 100

Une seconde culture, de 4 semaines plus âgée, donna les chiffres suivants :

I. Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,13384	p. 100
II. Après traitement par l'acide phosphotungstique :		
a. Teneur en azote du résidu de filtration.......	0,03136	—
b. Azote des amides..........................	0,09436	—
Ensemble...............	0,12572	p. 100

La différence, on le voit, est peu considérable.

3° Culture de lait du bacille γ, âgée de 2 mois :

Le bacille γ est également un ferment lactique isolé du fromage. C'est un bacille court et épais.

Réaction : légèrement acide.
Goût : un peu l'arome du fromage.

I. Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,10808	p. 100
II. Après traitement par l'acide phospho-tungstique :		
a. Teneur en azote du résidu de filtration.......	0,0238	—
b. Azote des amides..........................	0,0778	—
Ensemble..............	0,1016	p. 100

4° Culture de lait d'un streptocoque trouvé dans le fromage de l'Emmenthal, âgée de 2 mois environ :

Ce streptocoque caille aussi le lait, mais il n'était pas nombreux dans ce fromage.

Réaction : légèrement acide.
Couleur : moins jaune brun que les autres.
Goût : astringent, ne rappelle pas le fromage.

I.	Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,04592 p. 100
II.	Après traitement par l'acide phospho-tungstique :	
a.	Teneur en azote du résidu de filtration.......	0,01148 —
b.	Azote des amides..........................	0,03584 —
	Ensemble...............	0,04732 p. 100

Une seconde culture un peu plus jeune donna un résultat analogue. Ce microorganisme paraît donc n'attaquer que faiblement la caséine, bien qu'il soit aussi un ferment lactique.

5° Culture de lait du bacille ι, également un ferment lactique isolé de fromages de l'Emmenthal, âgée de 2 1/2 mois :

Ce bacille coagule le lait, il est court et assez épais, plus grand que le bacille α.

Réaction : neutre.
Goût : rappelant le fromage.
Couleur : brunâtre.

I.	Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,19936 p. 100
II.	Après traitement par l'acide phospho-tungstique :	
a.	Teneur en azote du résidu de filtration.......	0,04424 —
b.	Azote des amides..........................	0,15624 —
	Ensemble...............	0,20048 p. 100

Une seconde culture de 3 semaines plus âgée donna les résultats suivants :

I.	Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,1904 p. 100
II.	Après traitement par l'acide phospho-tungstique :	
a.	Teneur en azote du résidu de filtration.......	0,04312 —
b.	Azote des amides..........................	0,14000 —
	Ensemble...............	0,18312 p. 100

6° Culture de lait du bacille β, également un ferment lactique isolé d'un fromage :

Couleur : jaunâtre.
Goût : rappelant le fromage.

I.	Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,14784 p. 100
II.	Après traitement par l'acide phospho-tungstique :	
a.	Teneur en azote du résidu de filtration.......	0,03304 —
b.	Azote des amides..........................	0.10668 —
	Ensemble...............	0,13972 p. 100

7° Culture de lait du bacille α et du microcoque ovale :

Réaction : légèrement acide.
Goût : celui des cultures du bacille α.

I. Teneur en azote de la culture filtrée	0,18088	p. 100
II. Après traitement par l'acide phospho-tungstique :		
a. Teneur en azote du résidu de filtration	0,0294	—
b. Azote des amides	0,14616	—
Ensemble	0,17556	p. 100

8° Culture de lait du bacille α et du bacille γ, de 4 semaines :

Réaction : encore acide.
Couleur : jaunâtre.
Goût : celui des cultures du bacille α, un peu acidulé.

I. Teneur en azote de la culture filtrée	0,15624	p. 100
II. Après traitement par l'acide phospho-tungstique :		
a. Teneur en azote du résidu de filtration	0,03892	—
b. Azote des amides	0,10528	—
Ensemble	0,14420	p. 100

Une seconde culture, âgée de 3 mois environ, donna les résultats suivants :

I. Teneur en azote de la culture filtrée	0,27216	p. 100
II. Après traitement par l'acide phospho-tungstique :		
a. Teneur en azote du résidu de filtration	0,08176	—
b. Azote des amides	0,20104	—
Ensemble	0,28280	p. 100

Ainsi qu'on le voit la décomposition est notablement plus avancée dans cette seconde culture.

9° Culture du lait du bacille α et du bacille ε âgée de 2 1/2 mois.

Couleur : brunâtre.
Réaction : un peu alcaline.
Goût : rappelle l'arome du fromage.

I. Teneur en azote de la culture filtrée	0,18592	p. 100
II. Après traitement par l'acide phospho-tungstique :		
a. Teneur en azote du résidu de filtration	0,03696	—
b. Azote des amides	0,14112	—
Ensemble	0,17808	p. 100

10. Culture de lait des bacilles α, β, δ et du micro-coque ovale, âgée de 3 semaines :

Le bacille δ est également un ferment lactique rencontré dans des fromages.

Réaction : un peu acide.
Goût : un peu d'arome du fromage.

I. Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,13496 p. 100
II. Après traitement par l'acide phospho-tungstique :	
a. Teneur en azote du résidu de filtration......	0,02856 —
b. Azote des amides.........................	0,10332 —
Ensemble...............	0,13188 p. 100

Une culture plus âgée de 3 semaines avait une réaction alcaline, un goût plus prononcé et donna les résultats suivants :

I. Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,19936 p. 100
II. Après traitement par l'acide phospho-tungstique :	
a. Teneur en azote du résidu de filtration......	0,05768 —
b. Azote des amides.........................	0,13356 —
Ensemble...............	0,19124 p. 100

Ainsi qu'on le voit la décomposition de la caséine a fait de notables progrès pendant ces trois semaines.

11. Culture du lait du bacille Schaffer, un des microbes produisant le boursouflement des fromages, âgée de 4 semaines :

Couleur : jaune pâle.
Goût : douçâtre.

I. Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,05712 p. 100
II. Après traitement par l'acide phospho-tungstique :	
a. Teneur en azote du résidu de filtration......	0,02856 —
b. Azote des amides.........................	0,03128 —
Ensemble...............	0,05984 p. 100

Ce microbe attaque un peu la caséine, et s'il en était de même des autres bactéries produisant le boursouflement des fromages, on pourrait en conclure qu'elles ne jouent aucun rôle dans la maturation.

12. Une dernière expérience fut faite avec le *Tyrothrix*

tenuis de Duclaux, pour déterminer l'énergie de son action sur la caséine. La culture était âgée de 4 semaines.

I. Teneur en azote de la culture filtrée.........	0,26992 p. 100
II. Après traitement par l'acide phospho-tungstique :	
a. Teneur en azote du résidu de filtration.......	0,11816 —
b. Azote des amides..........................	0,12264 —
Ensemble...............	0,24080 p. 100

Dans cette expérience, la différence entre I et II est un peu forte ; elle provient probablement de ce que, dans la détermination de l'azote des amides le liquide, traité d'après Kjeldahl, écuma si fortement qu'il se produisit une petite perte de substance.

Son action sur la caséine est donc très considérable, mais nous avons vu que sa rareté dans le fromage exclut la possibilité d'une action sur la maturation.

Il résulte de ces expériences que les ferments lactiques, surtout ceux qui ont été isolés de fromages, sont doués du pouvoir de rendre la caséine soluble et de la décomposer. Les résultats obtenus sont d'autant plus concluants quand on les compare à ceux de Bondzynski dans ses analyses de fromages de l'Emmenthal. Ainsi, pour citer un exemple, cet auteur trouve dans le filtratum de deux émulsions de fromages mûrs de l'Emmenthal 1,44 p. 100 et 1,51 p. 100 d'azote, soit l'azote des parties solubles du fromage. L'azote des amides donna 0,93 et 0,82 p. 100. Ce sont des chiffres 9 à 10 fois plus élevés que les miens, mais M. Bondzynski analysait des fromages et moi du lait. Or, pour faire un kilogramme de fromage on compte à peu près 11 kilogrammes de lait. La concordance est donc aussi parfaite qu'elle peut l'être, étant donné que les conditions d'expérience (température, etc.) n'étaient pas identiques.

Ces résultats ainsi que le fait, prouvé par les si nombreuses expériences que j'ai relatées, que les ferments lactiques sont en quantité énorme dans le fromage en voie de maturation, tandis que d'autres espèces bactériennes comme les *Tyrothrix*, y sont relativement rares, permettent d'affirmer que les agents microbiens de la maturation

du fromage doivent être cherchés parmi les ferments lactiques. Or, du moment où nous les connaissons, on est en droit d'espérer que l'on pourra les utiliser au profit de l'industrie fromagère, de même que l'on se sert avec grand avantage de cultures bactériennes, dans la fabrication du beurre, pour mûrir la crème.

Dans la maturation des fromages mous, au contraire, l'*Oïdium lactis* et les levures semblent, ainsi qu'il résulte de mes précédentes recherches, jouer un rôle actif, de concert avec les ferments lactiques probablement.

REVUES ET ANALYSES[1]

W.-A. Ivanoff. — **Contribution à la question de la pénétration des vapeurs de formaline dans les tissus organiques** (*Centralblatt für Bakteriologie*, XXII, p. 50).

L'auteur a étudié l'action désinfectante des vapeurs de formaline sur la surface des organes et recherché en même temps jusqu'à quelle profondeur elles pénétraient. Il employait pour ces expériences le foie et la rate d'animaux ayant succombé à une septicémie (bacille du charbon, vibrio Mestchnikroff B ou choléra des poules et bacille de la diphtérie des pigeons). Après s'être assuré que ces microorganismes étaient présents dans l'intérieur des organes, ces derniers étaient coupés en morceaux et suspendus par des crochets dans des vases de verre, fermés hermétiquement, dans lesquels ils étaient soumis à l'action des vapeurs de formaline (1 partie de formaline pour 100 d'air). Après des temps variables le suc de la surface était ensemencé dans des tubes d'agar; pour juger de la pénétration des vapeurs, il employait des morceaux carrés du foie de 1 centimètre de largeur et de hauteur ; après désinfection de la surface, des parcelles recueillies dans le milieu de ces morceaux, donc à environ 5 millimètres de la surface, étaient ensemencées sur de l'agar.

Les deux tableaux suivants résument les résultats :

Action bactéricide des vapeurs de formaline à la surface du foie

BACTÉRIES EMPLOYÉES	A LA TEMPÉRATURE DE LA CHAMBRE	A LA TEMPÉRATURE DU CORPS
Bac. anthracis......	Désinfection obtenue après 15 minutes	Désinfection obtenue en moins de 5 min.
B. choleræ gallinarum.............	Désinfection obtenue après 15 minutes	Désinfection obtenue en moins de 5 min.
Vibrio Metschnikoff..	Désinfection obtenue après 60 minutes	Désinfection obtenue en moins de 5 min.
B. diphteriæ columbarum...........	Désinfection obtenue après 60 minutes	Désinfection obtenue en moins de 5 min.

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

Action bactéricide des vapeurs de formaline sur le foie à une profondeur de 5 millimètres

BACTÉRIES EMPLOYÉES	A LA TEMPÉRATURE DE LA CHAMBRE	A LA TEMPÉRATURE DU CORPS
B. anthracis........	Désinfection obtenue en 15 heures	Désinfection obtenue en 6 heures
B. choleræ gallinarum.............	Désinfection obtenue en 24 heures	Désinfection obtenue en 3 heures
Vibrio Metschnikoff.	Désinfection obtenue en 24 heures	Désinfection obtenue en 4 heures

On peut macroscopiquement déjà reconnaître d'avance si la désinfection a été obtenue ou non. En effet, lorsque l'organe a perdu sa couleur caractéristique, qu'il est devenu gris-blanc et que sa consistance est plus dense, on peut être certain que les microbes contenus dans ces parties ont péri. Lorsqu'au contraire l'organe a conservé sa couleur et surtout son humidité, on y retrouve les microbes en vie.

E. F.

Dr K. Kashida. — **Différenciation du bacille typhique du bacterium coli commune par la réaction ammoniacale** (*Centralblatt für Bakteriologie*, première section, XXI, p. 802).

La plupart des moyens préconisés pour la différenciation du bacille typhique et du bacille coli reposent sur la production d'acide de ce dernier. L'auteur propose au contraire de se servir à cet effet de la propriété qu'auraient les variétés de coli de produire de l'ammoniaque après avoir été, au début, producteurs d'acide. Pour cela M. Kashida emploie de la gélose additionnée de 2 p. 100 de sucre de lait, de 1 p. 100 d'urée et de 30 p .100 de teinture de tournesol. Lorsqu'on fluidifie ce milieu nutritif, qu'on l'ensemence avec des bacilles coli et qu'on le coule en plaques de Petri, on voit, après 16 à 18 heures, la couleur de la gélose de bleue qu'elle était devenir rouge par suite de la production d'acide. Mais, après 24 heures, la décomposition ammoniacale de l'urée se produit, et la gélose redevient bleue, même les colonies prennent une teinte bleuâtre, et l'eau de condensation devient alcaline. Le bacille typhique par contre croît moins bien sur ce milieu; il n'en altère pas la réaction, et même, après 72 heures, la couleur du milieu n'est pas modifiée. Les colonies restent aussi incolores.

E. F.

Dr D. Kischensky. — **Procédé rapide d'examen des bactéries dans les préparations sur couvre-objets et sur porte-objets.** (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXI, p. 876.)

L'auteur recommande le procédé suivant : pour la coloration on se sert d'une faible solution de fuchsine carbolisée (10 gouttes dans 10 centimètres cubes d'eau). Une goutte de cette solution est déposée sur le couvre-objet ou sur le porte-objet préalablement soigneusement nettoyé ; on prend alors une petite quantité de culture avec l'anse de platine, et on l'agite dans cette gouttelette que l'on étend en une mince couche à la surface du verre. On chauffe alors légèrement, mais pas jusqu'à ébullition, pour sécher et fixer la préparation que l'on examine ensuite de la façon habituelle. Les bactéries sont fortement colorées, souvent même les flagella des espèces mobiles sont visibles. L'avantage du procédé consiste dans sa rapidité et dans le fait que le fond de la préparation reste incolore. On peut l'employer également pour les préparations de pus, de fèces, de sédiments d'urine, etc. ; dans ce cas il est préférable d'employer le mélange de fuchsine carbolisée et d'une solution alcoolique de bleu, de méthylène préconisé par M. M. Iakobsohn et Pick (*Berlin. Klin. Wochenschrift*, septembre 1896). Les noyaux des cellules et les bactéries se colorent alors en bleu, les différents détritus en rose, quelques bactéries en voie de dégénérescence se colorent en rouge. En général on constate des différences dans la coloration des bactéries ; les unes sont d'un bleu foncé, les autres sont faiblement colorées en bleu, d'autres sont violettes.

E. F.

F. Hesse. — **De l'emploi de la gélose dans les analyses d'eau** (*Centralblatt für Bakteriologie*, XXI, p. 932).

Un des inconvénients qu'accompagne l'emploi des plaques de gélatine pour l'analyse bactériologique de l'eau réside dans le grand nombre de bactéries fluidifiantes que l'on rencontre dans l'eau, inconvénient qui a fréquemment pour résultat que les plaques ne peuvent pas être conservées aussi longtemps qu'il serait désirable pour donner à toutes les bactéries enfermées dans la gélatine le temps d'éclore. Pour y remédier, l'auteur propose l'emploi de plaques de gélose ; les tubes de gélose sont préalablement fluidifiés au bain-marie et ensemencés quand ils ont une température de 38-40 degrés avec l'eau à analyser. On verse alors la gélose dans des boîtes de Pétri, que l'on tient ensuite à la tem-

pérature de la chambre, température qui convient mieux que celle de l'étuve aux germes de l'eau.

Le travail de M. Hesse est accompagné de tableaux donnant les résultats d'expérience comparatives qu'il a faites avec de la gélatine et de la gélose. Il en tire le conclusions suivantes :

1° Toutes les eaux analysées contenaient des bactéries liquéfiant la gélatine ;

2° Les germes étaient répartis dans l'eau d'une manière assez égale ;

3° Sur les plaques de gélatine, le maximum des colonies qu'il était possible de compter était en moyenne atteint après 6-10 jours ; sur les plaques de gélose tenues dans les mêmes conditions, après 11-15 jours, donc beaucoup plus tard ;

4° Sur les plaques de gélatine le chiffre des colonies diminue sans exception après que le maximum a été atteint par suite des liquéfactions qui se produisent, ce qui n'est pas le cas sur la gélose ;

5° Une diminution du nombre des colonies ne s'observe sur gélose, à la suite de la dessication de celle-ci, que sur les plaques tenues à 25 degrés et 37 degrés, mais après 15 jours seulement ;

6° A la température de l'étuve, il se développe sur gélose beaucoup moins de colonies qu'à la température de la chambre ; des différences entre 18 degrés et 24 degrés sont sans influence sur la croissance des colonies ;

7° En moyenne, le maximum des colonies fut de 8,4 pour la gélatine et de 12,5 sur gélose.

E. F.

Prof. Dr A.-P. Frosch. — **Contribution à la question de la culture à l'état de pureté des amibes** (*Centralblatt für Bakteriologie*, XXI, p. 926).

La culture des amibes semble être une chose peu aisée. Elles se multiplient, il est vrai, facilement dans des infusions diverses, mais ces infusions sont toujours habitées par de nombreuses bactéries. On a essayé, au moyen de milieux solides, de séparer ces différents microorganismes, comme on le fait pour l'isolement des espèces bactériennes ; on a pu ainsi obtenir des colonies d'amibes, mais celles-ci aussi renfermaient encore des bactéries ; on a essayé les milieux les plus divers, toujours dans l'espoir d'en trouver un qui favorise les amibes et empêche les pullulations microbiennes ; mais toujours quand les amibes croissaient, on voyait aussi apparaître les bactéries. Jusqu'à aujourd'hui on ne pouvait donc dire s'il y a là une symbiose nécessaire ou si seule-

ment le milieu nutritif tant cherché n'était pas encore trouvé. Pour résoudre cette question, il a paru à l'auteur qu'il fallait avant tout chercher à ensemencer non pas des mélanges de microorganismes que l'on tâche d'isoler ensuite, mais les amibes seules, dépouillées de leurs suivants habituels, les bactéries.

Dans ses expériences, M. Frossh s'est servi d'une amibe de forte taille, que l'on trouve dans la terre de jardin et qui présente beaucoup d'analogie avec l'*Amoeba nitrophila* de Beijerinck. Les kystes ont un diamètre de 12 millimètres. L'amibe elle-même possède un noyau entouré d'une auréole pâle, une grande vacuole nettement contractile ; elle se reproduit par division, quelquefois par bourgeonnement. Elle ne croît pas à la température du corps, mais supporte l'absence d'oxygène. A un moment donné elle s'encapsule et forme des kystes, munis d'une enveloppe à doubles contours très réfringente, dans l'intérieur desquels on remarque une sorte de noyau entouré d'une couronne de rayons. Ces kystes ayant paru à l'auteur doués d'une force de résistance plus grandes que les amibes, c'est eux qu'il a cherché à débarrasser des bactéries, et il a trouvé, paraît-il, un excellent moyen dans l'emploi d'une solution à 20 p. 100 de soude agissant pendant 72-74 heures à la température de la chambre. Mais une condition essentielle de la réussite est que l'on opère avec des mélanges ne contenant pas de bactéries munies de spores, ni de moisissures, ni de levures, qui résistent à l'action de la soude. M. Frosch n'eut pas de peine à réaliser ces conditions. En employant des plaques d'agar ensemencées en surface avec des infusions de terre dans lesquelles ces amibes s'étaient bien développées, il avait vu certaines colonies bactériennes donner lieu à une prolifération d'amibes; or, ces colonies qu'affectionnaient les amibes, se trouvaient être une espèce sans spores. En soumettant quelques-unes de ces colonies à l'action de la solution de soude, M. Frosch put alors se convaincre que les bactéries en question ne résistaient pas; en effet l'émulsion ainsi traitée de ces colonies ensemencées dans des milieux favorables aux bactéries ne donna naissance à aucune colonie bactérienne, les bactéries avaient donc été tuées par ce procédé. On aurait même pu croire que tout était tué, car rien du tout ne croissait dans la gélatine. Tel n'était, toutefois, pas le cas, et les kystes étaient restés vivants, ainsi que le prouve ce qui suit : pensant qu'il fallait aux amibes la symbiose de ces bactéries, M. Frosch ensemença d'abord en strie sur agar une culture de ces bactéries; puis, après développement de la culture, il déposa à l'un des bouts de la strie une gouttelette de l'émulsion de kystes débarrassée de bactéries ainsi qu'il a été dit plus haut; on vit alors les amibes commencer à se multiplier en suivant la strie bactérienne qu'elles détruisent peu à peu. M. Frosch répéta cette expérience avec d'autres

espèces bactériennes; il en trouva qui ne conviennent absolument pas aux amibes, tandis que d'autres permettaient un développement peu abondant. C'est l'espèce dont il a été parlé plus haut qui lui a donné les meilleurs résultats. C'est un bâtonnet court, immobile, à bouts arrondis, qui ne produit pas de spores, ne liquéfie pas la gélatine et qui ne croît pas à la température de l'étuve, ni en l'absence d'oxygène. Il donne sur gélatine et agar un gazon épais, rappellant la croissance des bacilles à capsule. M. Frosch l'a trouvé dans la terre de jardin. L'auteur essaya encore des milieux les plus divers, mais jamais il ne put y faire croître les amibes ensemencées seules; toutes les fois, par contre, que le milieu avait d'abord reçu ces bactéries, les kystes qu'on y transportaient s'y développaient fort bien. Il semble donc résulter de ceci que la condition nécessaire de la multiplication des amibes soit la présence d'une espèce bactérienne leur convenant; le milieu nutritif choisi n'aurait donc qu'une importance secondaire; M. Frosch se sert toutefois avec le plus de succès de l'agar suivant :

1/2 gramme d'agar;
90 grammes d'eau de la conduite d'eau;
10 grammes de bouillon alcalin ordinaire.

Pour voir si ce sont les produits de culture de ces bactéries ou ces dernières elles-mêmes qui sont nécessaires aux amibes, l'auteur fit des cultures bactériennes en milieux liquides, filtra ensuite ceux-ci à la bougie Chamberland et y ensemença les amibes. Rien ne crût. Il faut donc admettre que ce sont les bactéries vivantes qui servent de pâture aux amibes, car M. Frosch ne réussit pas non plus à les cultiver sur des bactéries préalablement tuées.

E. F.

Prof. C. Flügge. — **De l'infection par l'air**
(*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXV, p. 179).

Le transport des germes par l'air est une des questions qui intéressent le plus l'hygiéniste, mais jusqu'ici les expériences qui ont été faites ne sont pas très concluantes, surtout lorsqu'il ne s'agit pas des poussières, mais des germes contenus dans des liquides. Ces derniers peuvent-ils être arrachés des liquides dans lesquels ils se trouvent par des courants d'air et être transportés plus loin ? Nägeli et Buchner ont répondu non à cette question, à condition que le courant d'air n'ait pas une vitesse supérieure à 20 mètres par seconde; en effet, dans leurs expériences, un courant d'air de cette vitesse traversant un tube en U, rempli d'un bouillon putréfié et traversant ensuite un second tube de bouillon

stérile n'infecta pas celui-là. Soyka, au contraire, put infester un bouillon nutritif dans lequel il faisait barboter un courant d'air ayant passé avec une vitesse de 3 centimètres par seconde sur un liquide en putréfaction. Mais ces deux séries d'expériences ne sont probantes ni l'une ni l'autre. A Soyka on pouvait objecter qu'il ne s'était pas suffisamment mis à l'abri des germes toujours présents dans l'air ; quant aux expériences de Nägeli, il est peu probable que le courant d'air traversant les tubes ait réellement été animé d'une vitesse de 20 mètres par seconde à son passage ; en effet, pour éviter une contamination fortuite, Nägeli était obligé de faire passer le courant d'air à travers un fort tampon d'ouate; or, dans ces conditions, d'après M. Flügge, un courant d'air de 10 à 20 mètres par seconde perd en traversant la ouate la plus grande partie de sa vitesse ; aussi M. Flügge ne croit-il pas que les courants d'air employés par Nägeli aient traversé ses liquides d'expérience avec une vitesse supérieure à 1 ou 2 mètres.

Pour ne pas être obligé de recourir à des tampons d'ouate et pour n'avoir pas non plus à tenir compte des germes banaux de l'air, M. Flügge se servit dans ses propres expériences de liquides infestés par des germes facilement reconnaissables, et il choisit, à cet effet, le *Bacillus prodigiosus* et le *Bacillus megaterium*. Pour recueillir les germes détachés des surfaces imprégnées de cultures pures (terre, vêtements) par le courant d'air, il employait soit des tubes enduits de lévulose, avec l'eau de lavage desquels on faisait ensuite des plaques d'agar, soit des tubes revêtus d'agar, soit aussi, quand il ne s'agissait pas d'analyses quantitatives, de simples plaques d'agar sur lesquelles on faisait passer l'air. Pour constater l'enlèvement de germes de la surface d'un liquide, M. Flügge remplissait d'un bouillon de culture des tubes larges de 2 centimètres à bouts légèrement relevés; ces tubes étaient placés dans une caisse en verre, dont le fond était recouvert de plaques d'agar, et il dirigeait sur la surface du liquide sous un angle de 45 degrés un courant d'air de vitesse variable. Dans ces dernières expériences il constata qu'un courant d'un mètre par seconde produit de petites vagues à la surface du liquide, mais sans qu'aucun germe en soit détaché. Mais, avec une vitesse de 4 mètres, le liquide mousse et de petites bulles sont projetées sur les parois. Après une durée de 15 minutes, les plaques du fond se montrèrent infectées et furent plus tard envahies par des centaines de colonies; les expériences furent renouvelées en modifiant les conditions, et il en résulta constamment que les germes ne se détachent d'un liquide que s'il y a production de gouttelettes, mais que ceci a lieu avec des courants d'air de vitesse modérée (4 mètres par seconde). Dans les conditions naturelles habituelles, ce cas se rencontrera donc fréquemment, et, comme on le verra plus bas,

il suffit, les gouttelettes une fois formées, d'un faible courant pour les transporter plus loin. A cet égard on pourrait seulement se demander comment il se fait que dans les expériences que l'on a faites sur mer, où généralement il y a des brises suffisantes pour détacher les germes de la surface, l'air se soit montré très pauvre en bactéries. M. Flügge l'attribue à ce que dans ces prises d'air on ne place pas les petits filtres à travers lesquels passe l'air dans la direction du vent pour éviter des contaminations fortuites ; il en résulterait que le vent chasse les gouttelettes devant l'orifice des filtres sans qu'elles y pénètrent, la force d'aspiration dont on se sert étant d'habitude très faible, 10 centimètres par seconde.

Lorsque, par contre, il n'y a pas de surface liquide susceptible d'être transformée en gouttelettes par les courants d'air, les germes adhérents à une surface humide, terre ou vêtements imprégnés de cultures, par exemple, n'en sont pas détachés même par un courant d'une vitesse de 60 mètres par seconde. Il en est autrement quand la dessication devient complète; il se forme alors des poussières susceptibles d'être enlevées par les courants d'air avec les germes qui y adhèrent.

M. Flügge a fait encore une série d'expériences sur le transport, par l'air, des gouttelettes et poussières une fois formées. Les résultats en furent très instructifs. En ce qui concerne les poussiéres sèches, M. Flügge constata dès le début que des courants très faibles suffisent pour transporter les poussières légères. Pour les produire il se servait d'un flacon d'aspiration dont le débit était calculé de manière à pouvoir descendre au-dessous de 1 centimètre par minute. L'air chargé des poussières imprégnées de germes connus (*prodigiosus*, *megaterium*) était aspiré à travers des flacons dont le fond était revêtu de gélatine nutritive. Nous ne pouvons ici donner d'une façon détaillée le dispositif de ces expériences, que le lecteur trouvera dans l'original, mais toutes les précautions étaient bien prises pour écarter toutes les causes d'erreur. L'auteur constata ainsi que déjà des courants de 0,2 millimètres par seconde suffisent pour transporter horizontalement des germes ; pour les élever verticalement de 6 à 7 centimètres, des courants de 0,3 à 0,4 millimètres par seconde sont suffisants.

Les expériences sur le transport des gouttelettes de liquide produites par un appareil à spray furent également concluantes. Il en résulte que la limite pour le transport vertical de ces gouttelettes se trouve dans une vitesse de 0,1 millimètre par seconde ou même un peu moins. La constatation de ce fait engagea M. Flügge à examiner si parler, tousser ou éternuer ne suffit pas pour produire une sorte de spray; tel fut en effet le cas, car il constata que si l'on se remplit la bouche d'une émulsion de *Bacillus prodigiosus* et que l'on parle, tousse ou éternue après avoir

placé des plaques d'agar en divers endroits de la chambre, ces dernières se recouvrent même à des distances de plusieurs mètres de colonies de ce microorganisme. C'est en toussant que l'on infeste le plus l'air. Il y a là certainement une possibilité de transmission de germes de maladie trop négligée jusqu'ici.

H.-L. Russell et John Weinzirl. — **L'augmentation et la diminution des bactéries dans le fromage de Cheddar** (*Centrablatt für Bakteriologie*, deuxième section, III, p. 456).

Les auteurs se sont livrés sur le fromage de Cheddar à une série d'investigations bactériologiques dont les résultats confirment tout à fait ce que nous savons au sujet des bactéries du fromage de l'Emmenthal.

Les auteurs se sont servis pour leurs numérations de gélatine avec addition de sucre de lait, de glucose, de petit-lait, etc. Il est regrettable seulement qu'ils n'aient pas employé aussi des plaques en surface d'agar sucré, procédé qui m'a permis d'isoler des bactéries jouant un rôle prépondérant dans la maturation du fromage et qui ne croissent pas ou mal dans la gélatine. Ils ont, par contre, rendu les numérations plus exactes en proposant de triturer les parcelles de fromage à analyser avec un peu de sable; on obtient ainsi, je le reconnais, des émulsions bien plus homogènes.

Voici maintenant les résultats de leurs analyses:

1° On observe, au début, dans le fromage frais une période de déclin, pendant un jour ou deux (période initiale de déclin) (1);

2° Cette chute initiale est suivie d'une augmentation marquée pendant laquelle les bactéries se chiffrent par vingtaines de millions par gramme de fromage (période d'augmentation) ;

3° Après cette période vient une diminution, d'abord rapide, puis graduelle, jusqu'à ce que le chiffre des bactéries devienne absolument insignifiant ;

4° Le temps nécessaire pour atteindre le développement maximum est hâté ou retardé par les conditions extérieures (température, humidité, etc.);

5° La seconde période marque le commencement des modifications physiques qui se produisent au début de la maturation du fromage;

6° La flore bactérienne du fromage diffère notablement de celle du lait. Dans ce dernier les ferments lactiques prédominent, mais ils sont toujours accompagnés d'organismes liquéfiants ou pepto-

(1) Les auteurs attribuent cette chute initiale au fait que les bactéries se trouvant, au début, dans des conditions tout à fait modifiées, prospèrent mal. Il est à noter aussi, que le lait employé pour ces fromages de Cheddar a mûri à 30 degrés et qu'il est, par conséquent, au moment de la fabrication du fromage, très riche en bactéries.

nisants, et, d'habitude, de bactéries susceptibles de produire des gaz. Dans le fromage en voie de maturation, les bactéries fluidifiantes sont rapidement éliminées; les organismes producteurs de gaz disparaissent plus lentement et persistent quelquefois longtemps, mais en petit nombre. Les ferments lactiques, au contraire, augmentent énormément de nombre, jusqu'à ce que le fromage ait à peu près mûri; ils commencent alors à diminuer;

7° La théorie généralement acceptée que les bactéries peptonisantes sont susceptibles d'attaquer la caséine dans le fromage, comme elles font dans le lait, n'est pas probable, vu que ce type de bactéries n'augmentent pas dans le fromage et qu'elles disparaissent avant qu'il se produise de changements physiques dans les conditions de la caséine. Il en est de même lorsqu'on fait des fromages avec du lait pasteurisé additionné de nombreuses bactéries fluidifiantes;

8° La coïncidence existant entre la maturation graduelle et l'augmentation concomitante du chiffre des ferments lactiques semble indiquer que ces phénomènes sont liés l'un à l'autre. Cette hypothèse trouve un appui dans le fait que le fromage fait avec du lait pasteurisé dans lequel on a tué les ferments lactiques ne mûrit pas d'une manière normale, tandis que l'addition des cultures pures de ferments lactiques au lait pasteurisé permet d'en faire du fromage dans lequel la caséine subit les modifications normales qui se produisent pendant la maturation.

On le voit, ces conclusions sont absolument conformes aux résultats de mes travaux antérieurs. Le travail plus récent que j'ai d'ailleurs publié ici-même (ces *Annales*, t. IX, p. 185) a démontré, enfin, que les ferments lactiques propres au fromage font subir à la caséine la transformation connue sous le nom de maturation.

E. F.

Ferd. KERN. — **Sur la capsule de la bactéridie charbonneuse** (*Centalblatt für Bakteriologie*, première section. XXII, p. 166).

Sérafini, Pianese, Iohne et Klett ont déjà constaté chez la bactéridie prise dans l'organisme animal la présence d'une capsule, en employant des solutions colorantes fortement diluées, ou bien en décolorant avec la fluorescine alcoolique, ou avec l'acide acétique à 1 p. 100, les préparations faites de la manière ordinaire. Pianese a même réussi à démontrer cette capsule chez les bactéridies ayant poussé sur sérum ou sur agar glycériné; mais ceci ne réussirait que rarement selon d'autres expérimentateurs. M. Kern, au contraire, paraît avoir trouvé une méthode permettant de mettre la capsule en évidence avec toutes espèces de culture, bien que cela

soit plus facile avec les bactéridies prises dans le sang. En outre, dans de toutes jeunes cultures, la capsule se colore très mal ; c'est plus facile avec une culture de 2 à 3 jours ; celles d'une à deux semaines donnent les meilleurs résultats.

L'auteur emploie une solution aqueuse de fuchsine ou de violet de gentiane avec adjonction d'huile d'aniline (eau d'aniline habituelle), la fuchsine carbolisée de Ziehl ou bien de bleu de méthylène de Loefller. Voici comment il opère :

La préparation est séchée et fixée. On verse quelques gouttes de la solution colorante, et on chauffe sur la flamme jusqu'à production de vapeurs ; on attend une minute et on chauffe de nouveau comme la première fois et ainsi de suite, 4 à 6 fois. S'il y a des spores, elles se colorent aussi. On lave à l'eau et l'on examine dans l'eau.

Dans les préparations ainsi traitées, on voit de longs filaments, composés de bacilles ne se touchant pas, mais séparés par un vide; celui-ci est faiblement coloré et dans le milieu on voit une ligne de séparation très mince ; les bords de la capsule sont parallèles aux corps de bacilles. Dans les vieilles cultures elles sont quelquefois boursouflées.

L'auteur résume ses recherches dans les conclusions suivantes :

I. — La bactéridie charbonneuse est entourée d'une capsule, tant dans le corps animal que dans les cultures ; la capsule est donc une partie intégrante de ce microorganisme.

II. — La capsule se voit plus facilement chez les bactéridies prises dans les cadavres que chez celles des cultures.

III. — Les bacilles ne sont pas enveloppés dans une capsule commune, mais chaque bacille possède une capsule nettement délimitée. Le point de contact entre deux capsules peut-être rendu visible sous forme d'une mince ligne horizontale.

IV. — La forme des capsules des bacilles des cultures varie avec l'âge.

E. F.

Prof. Dr Gustave Kabrhel. — **Études bactériologiques et critiques sur la contamination des rivières** (*Archive für Hygiene*, XXX, p. 32).

L'auteur a analysé quotidiennement pendant 8 mois les eaux de la Moldau, à Prague, au point de vue bactériologique, et il a pu tirer de ses recherches les conclusions suivantes :

1° Le chiffre des bactéries de l'eau des rivières, recueillie à un même endroit, peut varier énormément (de 1000 à 100.000 et 200.000). En général, le chiffre des bactéries augmente avec l'étiage et diminue quand les eaux décroissent;

2° Ces variations ont pour causes :

a. Des modifications dans la rapidité du courant (modifications des conditions de la sédimentation, action moins prolongée de la lumière quand le courant est plus rapide, etc.) ;

b. L'apport temporaire d'eaux contaminées à la suite de pluies ayant lavé des rues, des canaux, des cours, des tas de fumier, etc. Ces apports temporaires peuvent, ce dont on a jusqu'ici négligé de tenir compte, souiller quelquefois une rivière bien plus que les affluents contaminés qu'ils reçoivent régulièrement (eaux de fabriques, etc.) ;

3° A cet égard il y a lieu de distinguer en fait de contaminations d'une rivière :

a. Sources normales de contamination (eaux de fabrique, canaux) ;

b. Sources temporaires de contamination (pluies) ;

4° Lorsqu'on veut juger du degré de contamination d'une rivière il faut exclure les facteurs qui agissent d'une façon anormale sur celle-ci. Ceci est le cas lorsqu'à la suite d'un temps sec le niveau de la rivière a baissé et s'est approché de l'étiage normal. La contamination constatée à ce moment peut être appelée la contamination normale ;

5° Les résultats des analyses bactériologiques effectuées pendant les hautes eaux ou bien au moment des basses eaux, mais alors qu'elles commencent à croître, ou au moment de chutes d'eaux locales, sont sans valeur pour apprécier la contamination normale de l'eau ; elles peuvent même conduire à de grossières erreurs ;

6° Aux endroits des rivières où le nombre des germes est peu élevé, la température n'exerce pas d'influence sensible sur ce dernier. Là, au contraire, où la contamination par les matières organiques est notable, le chiffre des bactéries dépend énormément de la température ;

8° Lorsqu'une rivière subit une crue, les différences de contamination des différentes places qui sont nettement marquées en temps de contamination normale, peuvent plus ou moins disparaître, de manière à ce que l'influence des apports contaminants, soit l'influence de l'auto-épuration des eaux, soit plus ou moins masquée (1).

E. F.

Dr Giovanni Malfitano. — **De la manière de se comporter des microorganismes à l'égard de l'action des gaz comprimés** (*Bolletino della società medico-chirurgica di Pavia*, séance du 9 juillet 1897).

Le but de l'auteur était de rechercher si dans des limites de durée et de tension susceptibles d'une application pratique l'action de l'oxygène, de l'oxyde de carbone et de l'anhydride carbonique,

(1) Voir les *Annuaires de l'Observatoire de Montsouris*, de 1888 à 1898.

à une pression supérieure à la normale, exercent une action mortelle sur les microorganismes, de manière à pouvoir se rendre compte de la valeur de ce moyen pour arriver à détruire les germes contenus dans des substances que l'on désire ne pas soumettre à l'action de la chaleur ou des antiseptiques.

La pression des gaz était de 45 à 50 atmosphères, la température celle de la chambre. Pour la description de l'appareil nous renvoyons le lecteur au mémoire original. Les microorganismes soumis aux expériences furent choisis parmi les hyphomycètes, les blastomycètes et les bactéries; c'étaient : l'*Aspergillus niger*, le *Penicillium glaucum*, le *Mucor racemosus*, le *Saccharomyces albus*, un *blastomycète* isolé d'une viande conservée, le *Mycoderma vini*, le *Proteus vulgaris*, le *B. subtillis*, le *B. coli communis* et le *B. anthracis*. Ces microorganismes étaient exposés à l'action des gaz soit secs, soit humides, soit en cultures. Après l'expérience qui durait de 20 à 64 heures, les germes étaient ensemencés dans du bouillon.

Ni l'oxygène, ni l'oxyde de carbone ne se sont, dans ces conditions, montrés capables de détruire les microorganismes mis en expérience. Avec l'acide carbonique, M. Malfitano aurait obtenu de meilleurs résultats; ce gaz comprimé aurait, en effet, tué la plupart des microorganismes employés (sauf le *B. subtilis*, dont les spores ont toujours résisté); mais il ajoute que cette action n'est sûre que lorsque les germes sont à l'état humide ou mieux encore dans un milieu liquide susceptible de dissoudre le gaz, tandis que lorsqu'ils sont exposés à son action en culture solide, le procédé serait incertain, et même quelquefois inefficace à l'égard de germes à l'état sec. C'est à cela que l'auteur attribue la différence des résultats obtenus par nous-mêmes en collaboration avec le Dr Schaffer (1), attendu que nous nous étions servis de germes desséchés sur de petits morceaux de papiers josèphe. Cependant nous avions aussi soumis du lait à l'action de l'acide carbonique comprimé, pendant 7 jours consécutifs, ce qui ne l'avait pas empêché de se cailler. Dans tous les cas, ce procédé de stérilisation restera bien aléatoire vu que les bacilles munis de spores résistent parfaitement, comme l'a remarqué M. Malfitano lui-même.

E. F.

Dr Rod. Neumann. — **Etudes sur la variabilité de la fonction chromogène chez le Staphylocoque pyogène doré et quelques autres bactéries** (*Archiv für Hygiene*, XXX, p. 15).

Différents expérimentateurs ont déjà remarqué que la fonction chromogène dont certaines espèces bactériennes sont douées

(1) Voir ces *Annales*, t. IV, p. 105.

peut se modifier sous l'action de différents agents (chaleur, lumière, antiseptiques, etc.) L'auteur, dans le présent travail, s'est attaché à rechercher si ces modifications ne se produisent pas d'elles-mêmes, sous l'influence de causes encore inconnues, et s'il ne serait pas possible de former, par voie de sélection naturelle, de nouvelles races possédant une fonction chromogène différente de la culture mère. Il avait remarqué, en effet, que dans les cultures d'une bactérie chromogène on voit quelquefois apparaître des places présentant une coloration différente; en inoculant une parcelle de ces places par piqûre sur agar et en répétant l'opération plusieurs fois, soit aussi en faisant des plaques, on arrive alors à obtenir à l'état de pureté une nouvelle race chromogène. M. Neumann entreprit, en conséquence, une série de recherches systématiques portant sur les microbes suivants : *Micrococcus pyogenes α aureus* (Staph. pyogène doré), *Micrococcus bicolor* Zimmerman, le *Micrococcus aurianticus* Cohn, la *Sarcina mobilis* Maurea, et le *Bacterium latericium* Adametz. Inutile de dire que toutes les précautions étaient prises pour écarter toute possibilité d'une contamination fortuite des cultures.

Voici, brièvement résumés, les résultats auxquels ont abouti ces recherches :

1° Le *Micrococcus pyogenes α aureus* (Staph. pyogène doré), peut, dans des conditions naturelles et sans l'emploi de moyens artificiels, donner naissance à des races *a*) blanche, *b*) jaune, *c*) couleur chair, *d*) orange, que l'on peut cultiver à l'état de races *constantes* ;

2° Il a été possible de retransformer la race couleur chair en race orange ?

3° La *Sarcina mobilis*, jaune à l'origine, donna deux variétés constantes, une jaune et une blanche ;

4° Le *Micrococcus bicolor* dont les cultures, à l'origine, donnaient des stries orange et blanches, donna une variété orange constante et une autre d'un blanc sale ;

5° Le *Micrococcus auranticus* qui, pendant des années, avait donné des cultures blanches, donna deux races constantes, une orange et une blanche ;

6° Il résulte de ceci, que la fonction chromogène peut, sans causes extérieures, pour des raisons encore inconnues, varier dans de très grandes limites et pas seulement d'une manière quantitative.

7° En comparant, entre elles, les nouvelles races sélectionnées, on ne constate aucune différence, excepté la fonction chromogène;

8° De même, en comparant entre elles à différents égards les nouvelles races sélectionnées avec les modifications « naturelles » jaunes et blanches du satphylocoque pyogène doré, on ne trouva que des différences rentrant dans les limites de la variabilité (par

exemple, fluidification plus ou moins rapide de la gélatine, etc.) ;

9° Une race *peut* ainsi descendre d'une autre race et se transformer en une nouvelle race ;

10° On ne connaît encore rien d'analogue à la nouvelle race sélectionnée couleur chair du staphylocoque ; le *Staph. roseus* décrit par Tavel paraît être identique au *Micrococcus roseus* ;

11° L'acide carbonique et l'hydrogène paraissent ne pas pouvoir provoquer d'une manière durable la perte de la pigmentation chez les bactéries étudiées. E. F

Dr George H.-F. Nuttall. — **Le rôle des insectes dans la transmission de la peste et la réceptivité des diverses espèces animales à l'égard de cette maladie** (*Centralblatt für Bakteriologie*, XXII, p. 87).

M. Yersin, dans ses recherches sur la peste, avait déjà remarqué dans son laboratoire la présence de nombreux cadavres de mouches et constaté que ceux-ci contenaient le bacille pesteux, car, inoculés à des cobayes, ils les faisaient mourir avec les symptômes spécifiques de la maladie. M. Nuttall a voulu faire des expériences plus précises à cet égard. Pour cela, des mouches enfermées dans des verres de lampe et nourries avec des bacilles pesteux — on humectait des morceaux de papier josèphe avec des cultures pures de bacilles — étaient tenues à des températures diverses en même temps que des mouches de contrôle.

A 12-14 degrés les bacilles semblèrent ne pas se développer dans le corps des mouches, car après 8 jours toutes les mouches étaient vivantes; cependant les bacilles furent retrouvés souvent en culture presque pure dans leur contenu intestinal.

A 14 degrés les résultats devinrent positifs. Le tableau suivant donnant les décès de 24 en 24 heures en fait foi :

Nombre des mouches							
mortes après	24 h.	48 h.	72 h.	96 h.	120 h.	144 h.	168 h.
9 infestées	0	2	4	5	6	6	9
8 —	0	0	2	4	»	»	»
10 de contrôle...	0	0	0	2	2	2	2

A 14-16 degrés le nombre des mouches succombant à l'infection augmente.

Nombre des mouches								
mortes après	24 h.	48 h.	72 h.	96 h.	120 h.	144 h.	168 h.	192 h.
17 infestées ..	0	0	0	4	6	10	16	17
14 de contrôle.	0	0	0	1	1	3	5	6

Dans cette expérience les mouches infectées n'avaient été nourries avec du bouillon pesteux que pendant 48 heures. A 28 degrés l'infection marche beaucoup plus rapidement.

	Nombre des mouches		
mortes après	24 h.	48 h.	72 h.
36 infestées..........	2	22	36
10 de contrôle.......	1	2	6

D'autres expériences donnèrent des résultats analogues. Toutes les mouches infectées succombaient à l'infection, tandis que celles de contrôle mouraient dans une proportion beaucoup plus faible. Comme les mouches infectées vivent encore quelques jours, il est donc hors de doute qu'elles peuvent transmettre la contagion lorsqu'elles souillent des aliments par leurs excréments où quand elles tombent dans des liquides.

Une seconde série d'expériences fut faite avec des punaises; celles-ci furent enfermées dans un flacon avec un rat sur le point de mourir de la peste, mais dont le sang contenait peu de bacilles; le contenu du corps de deux des punaises ayant sucé le sang du rat inoculé à une souris la fit mourir de la peste; les quatre autres punaises par contre, ne la transmirent pas. Dans un autre cas, où les punaises avaient sucé le sang d'une souris très riche en bacilles, le contenu de leur intestin transmit dans cinq cas sur six la peste à des souris. Par contre, la piqûre seule des punaises infectées ne transmit pas la peste à des souris.

En ce qui concerne la transmissibilité de la peste aux animaux, l'auteur eut des résultats positifs suivis de mort avec les animaux suivants : rats, rats blancs, souris des maisons, des champs et des bois, cobayes, lapins, cochons, singes, chats, poules, moineaux et mouches; les souris blanches contractent aussi la maladie, mais moins facilement.

Les lézards et les serpents peuvent la contracter, mais seulement quand ils sont tenus à des températures plus élevées.

Les pigeons, les hérissons et les grenouilles se montrèrent réfractaires. Des résultats négatifs furent également obtenus avec les bœufs et les chiens, d'après M. Kitasato, Ogata et Yersin.

E. F.

E. Klein. — **Un microcoque pathogène pour l'homme et les animaux; le staphylococcus hæmorrhagicus** (*Centralblatt für Bakteriologie*, XXII, p. 81).

Ayant eu à examiner le contenu de pustules qui s'étaient formées sur les mains de personnes ayant écorché des moutons morts

d'une maladie dont les symptômes avaient consisté en un œdème hémorrhagique de l'aine et du ventre ayant débuté à la vulve, M. Klein en isola, en outre, de 3 colonies de *Staph. albus* de très nombreuses colonies d'un microcoque présentant les caractères suivants :

Sur agar les colonies sont rondes, blanches éclairées par en haut, brunâtres et granuleuses quand elles sont éclairées par transparence. Après deux jours elles deviennent jaunâtres. Il n'y a pas de production de gaz. Le bouillon est troublé en 24-48 heures. Sur pomme de terre, ce microorganisme donne un enduit gris, qui, après une semaine, prend un ton jaunâtre. Le sérum de sang n'est pas fluidifié. Dans les préparations les microcoques sont seuls, ou par deux, ou en amas. Ils prennent bien les couleurs d'aniline et ne sont pas décolorés par la méthode de Gram.

Ce microcoque ressemble ainsi beaucoup au staphylocoque doré, en particulier à celui décrit par Nocard comme l'agent de la mastite gangréneuse du mouton (mal de pis, araignée, *Annales de l'Institut Pasteur*, t. I, p. 517). On remarque, toutefois, les différences suivantes :

1° Nocard a rencontré son microcoque dans des cas de gangrène. Aucun des moutons qui avaient provoqué l'infection observée par M. Klein n'avait été atteint de mastite ;

2° La maladie décrite par Nocard paraît être très fréquente ; cependant il ne mentionne aucun cas de transmission à l'homme ;

3° Le microcoque de M. Nocard ne produit chez le cobaye, auquel on l'inocule par la voie sous-cutanée, même à forte dose, qu'un peu d'œdème disparaissant rapidement. Celui de M. Klein, inoculé à dose faible (2 à 3 anses) produit un œdème hemorrhagique étendu et amène la mort en 16-48 heures. Souvent l'intestin grêle est enflammé ; dans ce cas le péritoine est très rouge et la cavité abdominale contient un exsudat séro-sanguinolent. L'injection intrapéritonéale d'une anse de platine produit une péritonite intense suivie de mort après 6-10 heures.

L'injection sous-cutanée de très petites doses ou de cultures affaiblies amène un malaise général accompagné d'un léger œdème hémorrhagique, mais l'animal se remet après quelques jours.

Les doses moyennes produisent aussi chez le lapin un œdème hémorrhagique, mais l'animal ne succombe pas à une infection aiguë. Cependant les animaux maigrissent et meurent quelquefois dans le marasme après 18 à 20 jours. Le microcoque de Nocard, au contraire, ne produit chez le lapin à dose forte qu'un abcès local.

Enfin le microcoque de Nocard fluidifie le sérum de sang coagulé, ce que ne fait pas celui de M. Klein.

M. Klein n'a malheureusement pas pu examiner les moutons mêmes, source probable de l'infection, mais il a constaté qu'ino-

culé à cet animal sous la peau de la cuisse, son microcoque amène la mort après avoir provoqué un œdème hémorrhagique étendu ; on y retrouve en culture pure les microcoques inoculés. Un second animal resté très malade pendant 10 jours avec les mêmes symptômes réussit à se remettre.

M. Klein propose d'appeler cette variété de staphylocoque le *Staphylococcus hæmorrhagicus*. E. F.

Dr W. Hesse. — **Sur la teneur en bactéries du bassin de natation du bain Albert à Dresde** (*Zeitschrift für Hygiene u. Infections-Krankheiten*, XXV, p. 482).

M. Hesse a eu la curiosité d'étudier la teneur en bactéries d'un bassin de natation à Dresde et les résultats auxquels il est arrivé ne sont pas sans intérêt. Le bassin en question était long de 20 mètres, large de 8 et profond de 1 à 3 mètres, sa contenance était d'environ 300 mètres cubes. Ce bassin est alimenté par la conduite d'eau de Dresde, extrêmement pauvre en bactéries. Tous les jours on rajoutait en 3 fois environ 60 mètres cubes et tous les 8 jours le bassin était vidé et nettoyé à fond avec de l'acide chlorhydrique. Les personnes qui utilisent le bassin sont tenues de se laver les pieds avec du savon et de prendre une douche avant d'entrer dans l'eau. En moyenne 200 personnes se baignaient par jour au moment des expériences. L'eau était généralement analysée le matin de bonne heure, alors que peu de personnes encore (de 2-13) s'étaient baignées. L'eau était recueillie à une profondeur de 2 mètres et les plaques (gélatine et agar) étaient faites sur place.

M. Hesse avait pensé que la contamination irait toujours en augmentant. Il n'en fut rien ; au début, après le nettoyage, l'eau était fort pauvre en germes, 100 à 200 par centimètres cubes ; dans les 2 jours suivants le nombre de ces derniers augmente sensiblement de 13 à 25.000 ; puis après quelques jours il diminue progressivement et tombe à des chiffres beaucoup plus bas, quelques milliers à peine, souvent même quelques centaines seulement.

Dans une expérience de laboratoire que M. Hesse fit avec l'eau de ce bassin, le résultat fut analogue ; un litre d'eau fut introduit dans un vase de porcelaine et celui-ci laissé ouvert ; chaque jour on enlevait 200 centimètres cubes que l'on remplaçait par de l'eau fraîche. Au début l'eau accusa 140 bactéries par centimètres cubes, le 3me jour 13.000, le 4me et le 5me jour les colonies furent innombrables, puis les jours suivants le chiffre des germes tomba à 45.000, 27.000, 11.000, 1.700, 2.200 et 2.400. E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Août* 1897.

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 31 du 1er août au 7 août	9.165	2.665	21°,4	1mm,7	NE	12km, 7	178	58
N° 32 » 8 » » 14 »	10.500	3.200	19 ,5	20 ,8	SW	13 ,8	187	65
N° 33 » 15 » » 21 »	10.400	2.500	18 ,3	22 ,1	SW	16 ,2	160	61
N° 34 » 22 » » 28 »	5.060	1.500	17 ,1	35 ,8	SW	15 ,9	125	44
N° » » » » » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	8.780	2.465	19°,1	80mm4	SW	14km, 6	650	228
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises: les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (bronchite aiguë, broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Août 1897. Bactéries = 6.000 Moisissures = 7.335 Température = 16°,8

Analyse de l'air au Passage Saint-Pierre

Août 1897. Bactéries = 4.265 Moisissures = 2.770 Température = 19°,1

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Août* 1897.

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Août 1897	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge. .	280	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant.	230	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust . . .	210	1.825	»	»
» Mairie du 2ᵉ arrondissement	500	2.195	»	»
» » 3ᵉ »	700	2.195	»	»
» » 1ᵉʳ »	1.200	2.195	»	»
» » 5ᵉ »	7.500	2.195	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	8.095	83.300	T = 20°,5	»
» de la Seine à Ivry	8.750	61.730	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	27.500	96.390	T = 20 ,2	Haut. = 0ᵐ,60
» de la Seine au pont de l'Alma.	50.000	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	2.250.000	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	1.875	75.310	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, 245, rue de Bercy	2.500	»	»	»
» Cours de Vincennes	27.500	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain du moulin de Cage	2.750	11.865	»	»
» d'Asnières	1.125	1.570	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	7.500.000	18.050.000	»	»

Diagnostics effectués par le Laboratoire de bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois de septembre 1897

Le nombre total des diagnostics réclamés au Laboratoire de bactériologie en septembre 1897 s'est élevé à 116.

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	1	»	1	2	3	5	6
De 2 à 5 ans......	1	1	2	10	10	20	22
De 5 à 10 ans......	1	4	5	4	6	10	15
De 10 à 15 ans......	»	»	»	2	1	3	3
De 15 à 30 ans......	»	»	»	3	8	11	11
De 30 à 60 ans......	»	»	»	2	2	4	4
De 60 et au-dessus ...	»	»	»	»	»	»	»
Age et sexe inconnus.	»	»	»	»	»	2	2
Totaux.........	3	5	8	23	30	55	63

Total des diagnostics	63
Angines diphtériques	8
Angines non diphtériques.................	55
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	12,7 p. 100

En septembre 1897, le chiffre des diagnostics effectués pour les angines douteuses est descendu très bas, comme d'ailleurs le chiffre des décès observés à Paris pour les affections diphtériques.

Tuberculose

En dehors des 63 dignostics d'angines douteuses, le Laboratoire a analysé, au point de vue bactériologique, 53 sécrétions morbides, parmi lesquelles les produits tuberculeux comptent comme toujours pour un chiffre élevé. Dans ces 48 produits soupçonnés tuberculeux, le bacille de Koch a été rencontré 22 fois, soit environ dans la moitié des cas.

Diagnostics effectués par le Laboratoire de Bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois d'octobre 1897.

Le nombre total des diagnostics réclamés au Laboratoire de Bactériologie en octobre 1897 s'est élevé à 156.

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	1	»	1	7	4	11	12
De 2 à 5 ans......	5	5	10	18	12	30	40
De 5 à 10 ans......	1	1	2	11	15	26	28
De 10 à 15 ans......	1	1	2	2	3	5	7
De 15 à 30 ans......	»	3	3	1	2	3	6
De 30 à 60 ans......	»	»	»	»	4	4	4
De 60 et au dessus ...	»	»	»	»	»	»	»
Age et sexe inconnus.	»	»	1	»	»	3	4
Totaux.........	8	10	19	39	40	82	101

Total des diagnostics....................	101
Angines diphtériques.....................	19
Angines non diphtériques.................	82
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	18,8 p. 100

Pendant le mois d'octobre de l'année 1897, il a été effectué 101 diagnostics d'angines douteuses, où l'analyse microscopique a décelé 19 fois le bacille de Lœffler, ce qui porte à 18,8 p. 100 la proportion des angines diphtériques observées pendant ce mois. Ce chiffre est notablement supérieur à celui qui avait été obtenu en septembre dernier (12,7) et se montre dû à une recrudescence d'angines diphtériques observée pendant la dernière décade du mois d'octobre.

Tuberculose

En dehors des diagnostics d'angines douteuses, le Laboratoire a effectué 55 autres diagnostics dont 47 relatifs à des produits soupçonnés tuberculeux, dans lesquels le bacille de Koch a été rencontré 15 fois, soit environ dans le tiers des cas.

PUBLICATIONS RÉCENTES

FÉLIX LE DANTEC. — La régénération du micronucleus chez quelques Infusoires ciliés (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 51).

L. CUÉNOT. — Évolution des grégariens cœlomiques du Grillon domestique (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 52).

E. ROZE. — La cause efficiente de la maladie de la pomme de terre appelée la *Frisolée* (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 59).

J. EFFRONT. — Sur une nouvelle enzyme hydrolytique la *caroubinase* (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 116).

C. PHISALIX. — Action physiologique du venin de la salamandre du Japon (*Sieboldia maxima*). Atténuation par la chaleur et vaccination de la grenouille contre ce venin. (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 121).

J. RAY. — Variation des Champignons inférieurs sous l'influence du milieu (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 193).

A. CHARRIN. — Influences exercées par les états pathologiques des générateurs sur la constitution des descendants (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 251).

BEAUREGARD. — Étude bactériologique de l'ambre gris (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 254).

L. CAMUS et E. GLEY. — Persistance d'activité de la présure à des températures basses ou élevées (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 256).

L. LÉGER. — Une nouvelle Myxosporidie de la famille des Glugeïdées (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 260).

F. MESNIL et E. MARCHOUX. — Sur un Sporozoaire nouveau (*Cœlosporidium chydoricolæ*), intermédiaire entre les Sarcosporidies et les *Amœbidium* Cienkowsky (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 323).

L'Éditeur-Gérant: C. NAUD.

Tours. — Imprimerie DESLIS FRÈRES.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

NOTE CRITIQUE EXPÉRIMENTALE

SUR

LE ROLE DES BACTÉRIES DANS LA FROMAGERIE

PAR

LE Dr C. GORINI (1)

Depuis que Cohn eut, le premier, en 1875, attiré l'attention sur l'intervention des microorganismes dans la maturation du fromage, trois classes de schizomycètes (sans parler des hyphomycètes et des blastomycètes) ont été mis en avant comme facteurs principaux de ce processus : les bactéries de la fermentation butyrique, les bactéries peptonisantes et les bactéries de la fermentation lactique.

De ces trois espèces bactériennes, celle qui se prête le mieux à expliquer la succession des phénomènes chimiques constituant la maturation des fromages (Maggiora) (2) est la seconde, qui est formée de microorganismes, qui d'abord coagulent, puis dissolvent (*peptonisent*) la caséine et la décomposent ensuite plus profondément, en mettant en liberté de l'ammoniaque, de la leucine, de la tyrosine, etc. (Duclaux).

A cette classe appartiennent une nombreuse série de bacilles que Cohn groupait en une espèce unique sous le

(1) Le présent travail a été suggéré par la lecture de récents travaux sur les microbes de la maturation du fromage (voir la Bibliographie) qui m'ont fait penser qu'il serait peut-être utile de publier quelques-unes de mes recherches exécutées, il y a quelque temps déjà, dans l'Institut d'hygiène de l'Université royale de Pavie, sur la biologie des bactéries du lait stérilisé.

(2) *Archiv. f. Hygiene*, XIV, 1892.

nom de *Bacillus subtilis* et que Duclaux a divisés en 10 espèces de *Tyrothrix*. A cette catégorie appartiennent aussi plusieurs des bacilles dits butyriques, lesquels ne sont pas, à proprement parler, des ferments butyriques, mais donnent de l'acide butyrique comme produit secondaire d'autres fermentations, spécialement de la décomposition de la caséine (*Tyrothrix catenula*, Duclaux ; *Buttersäurebacillus*, Hueppe).

En ce qui concerne la première espèce, c'est-à-dire les ferments butyriques proprement dits qui tirent de l'acide butyrique de la lactose, soit en faisant directement fermenter celle-ci (*B. amylozyme*, Perdrix ; *B. butyricus*, Botkin; *B. orthobutyricus*, Grimbert; *B. saccharobutyricus*, von Klecki), soit indirectement, par fermentation du lactate de chaux dérivé de la lactose (*Vibrion butyrique*, Pasteur; *B. amylobacter*, van Tieghem ; *Clostridium butyricum*, Prazmowski), on ne sait pas encore bien qu'elle est leur importance à l'égard de la maturation du fromage. Tandis qu'autrefois, partant de la présence constante d'acide butyrique dans les fromages mûrs, on pensait avec Cohn que la maturation se résumait en une fermentation butyrique de la lactose, on sait aujourd'hui que ceci n'est qu'un phénomène intercurrent et, de plus, que l'acide butyrique peut dériver non seulement de la lactose, mais aussi de la caséine et de la graisse en suite de processus multiples.

Les derniers expérimentateurs qui se sont occupés de cette question inclinent à croire que les ferments butyriques ne sont ni suffisants, ni même peut-être nécessaires pour la maturation, mais qu'ils contribuent d'une manière efficace pour l'accélérer et pour développer la saveur et l'arome caractéristiques (Weigmann, von Klecki).

Plus discutée est encore l'action de la troisième espèce, c'est-à-dire des ferments lactiques, dont l'intervention dans cette question est de date plus récente.

Déjà Adametz, en 1889, employant comme moyen d'isolement les milieux solides au lieu des milieux liquides dont se servait Duclaux, avait trouvé, dans les fromages, en outre des bacilles peptonisants, une notable quantité d'autres microorganismes parmi lesquels beaucoup de

ferments lactiques. Cependant il continua à attribuer le plus d'importance aux bacilles peptonisants. C'est de Freudenreich qui, ayant vérifié dans ses recherches sur les fromages cuits du type de l'Emmenthal que les bactéries peptonisantes s'y rencontrent habituellement en nombre assez faible, qu'elles ne s'y multiplient pas, qu'elles y meurent même rapidement, et qu'ensemencées artificiellement dans le fromage elles n'en accélèrent pas la maturation, et qui ayant, d'autre part, constaté que l'examen bactériologique de ces fromages accuse presque exclusivement un chiffre très considérable de ferments lactiques qui augmentent rapidement de nombre pendant que la maturation avance, commença à mettre en seconde ligne les bactéries peptonisantes et à accorder la première place aux ferments lactiques. A la même conclusion sont également arrivés Lloyd, Russel et Weinzirl dans leurs études sur le fromage de Cheddar.

Une telle hypothèse étant émise, la difficulté était de démontrer comment s'accomplit alors la maturation qui exige une profonde modification de la caséine, modification que les ferments lactiques ne se montrent pas capables de produire dans le lait, dans lequel ils se bornent à amener une coagulation à réaction acide.

Winckler chercha à aplanir ces difficultés et à concilier les diverses opinions en mettant en lumière la propriété des bacilles peptonisants de se transformer en ferments lactiques grâce à la présence d'une petite quantité de lactose qui se trouverait précisément dans le fromage. On pourrait alors se représenter le processus de la maturation ainsi : les bactéries peptoniseraient d'abord la caséine, puis se transformeraient en ferments lactiques, d'où leur prédominance dans le fromage mûr.

Cette explication commode n'a pas satisfait de Freudenreich, à la suite d'expériences de contrôle exécutées dans son laboratoire par le Dr Witlin qui ne confirmèrent pas les résultats de Winckler.

Il put, au contraire, dans des recherches ultérieures, démontrer que, si l'on neutralise l'acidité du lait à mesure qu'elle est produite par l'action des ferments lactiques, ceux-ci deviennent capables d'attaquer aussi la caséine et

de la transformer en substances albuminoïdes solubles et en amides.

Le caractère de vrais agents de la maturation des fromages resterait, d'après cela, acquis aux ferments lactiques.

Telle est, en résumé, la portée des dernières recherches bactériologiques sur la maturation des fromages, recherches qui, quoique la solution pratique du problème soit encore éloignée, révèlent une nouvelle voie dans laquelle on pourra s'engager avec sûreté.

Cette voie consiste dans l'étude de l'influence des conditions vitales qui peuvent se vérifier dans les fromages en voie de maturation, sur les manifestations physiologiques des bactéries qui s'y trouvent.

Ce n'est ainsi plus la détermination générique des microorganismes isolés des fromages, ni la description de leurs caractères sur les milieux de culture ordinaires qu'il nous importe de connaître pour leur assigner la place correspondante dans le processus de la maturation, mais bien leur biologie par rapport au milieu ambiant dans lequel ils se trouvent.

C'est de ce principe que s'est déjà inspiré Hansen dans ses géniales et laborieuses recherches sur les ferments de la bière, par lesquelles il a réussi à différencier plusieurs races de Saccharomycètes qui, étudiées par rapport au processus de la fabrication de la bière, se montrèrent très dissemblables, tandis que leurs caractères communs morphologiques et biologiques auraient pu les faire passer pour identiques. Et, c'est en cela, à mon avis, que consiste le principal mérite de Hansen, non pas d'avoir isolé des espèces spéciales, mais d'avoir su sélectionner une race déterminée, au milieu d'autres races semblables, en ayant toujours en vue le but spécial de la fabrication de la bière.

C'est en rendant hommage à ce concept que je crois pouvoir attirer l'attention sur quelques-unes de mes propres expériences, desquelles il résulte que non seulement la composition du terrain nutritif, ainsi que l'ont démontré Winckler et de Freudenreich, mais aussi la température et la présence ou l'absence de l'air, qui ont tant d'influence sur la maturation des fromages, ont également

une influence décisive sur les fonctions des bactéries du lait.

Mes expériences ont trait à sept espèces bactériennes isolées du lait stérilisé ; deux d'entre elles, le *B. lactis niger* et le *B. lactis thermophilus*, ont déjà été décrites dans un précédent travail (1) ; pour cequi est des autres, je crois inutile de donner ici leurs caractères morphologiques et de culture, qui ne présentent rien de spécial, attendu qu'il s'agit de bacilles appartenant au groupe du *subtilis*, bacilles à endospores, aérobies, se colorant d'après la méthode de Gram, se développant facilement sur tous les milieux de culture, spécialement aux températures entre 30 degrés et 37 degrés et se différencient entre eux surtout par l'aspect des cultures sur pommes de terre. Excepté le *B. lactis thermophilus*, qui ne se développe pas au-dessous de 35 degrés, tous les autres liquéfient lentement la gélatine entre 15-20 degrés C.

Pour ne pas enrichir inutilement la nomenclature bactérienne, je me suis borné à désigner ces cinq dernières espèces sous les chiffres III, IV, V, VI et VII.

J'ajouterai que, comme il n'était pas nécessaire, pour l'objet que j'avais en vue, de déterminer d'une manière précise les produits formés dans chaque cas particulier, je me suis servi du terme général de *peptonisation* pour indiquer la dissolution de la caséine, à la suite de laquelle le lait se transforme en un liquide peu dense, d'aspect séreux, plus ou moins jaunâtre.

Influence de la température. — Des quantités égales (10 centimètres cubes) de lait frais, à réaction amphotère et stérilisé 20 minutes à l'autoclave à une atmosphère, furent ensemencées avec des doses égales (1-2 gouttes) d'une émulsion aqueuse d'une culture sur pomme de terre de 24 heures à 37 degrés de chacun de ces bacilles. Ces laits ensemencés furent tenus les uns à 35-37 degrés, les autres à 15-20 degrés durant un mois. Les faits suivants furent notés pendant cette expérience :

(1) *Giornale della R. Societa italiana d'Igiene*, XVI, 1894.

TABLEAU I

	35° — 37°	15° — 20°
B. I (*B. lactis niger*).	Coagulation le 2° jour. Réaction neutre. Dans la suite peptonisation rapide.	Peptonisation lente (à partir du 6° jour) non précédée de coagulation. Réaction neutre.
B. II (*B. lactis thermophilus*)........	Coagulation le 8° jour. Réaction acide.	Inaltéré. Pas de développement.
B. III...............	Coagulation en 2 jours. Réaction neutre. Dans la suite peptonisation rapide.	Peptonisation lente (à partir du 8° jour), non précédée de coagulation. Réaction neutre.
B. IV.............	Comme le précédent.	Comme le précédent (à partir du 5° jour).
B. V............ ...	Comme le précédent (à partir du 4° jour).	Inaltéré.
B. VI..............	Coagulation en 3 jours. Réaction acide. *Aucune peptonisation.*	Peptonisation très lente (à partir de la 3° semaine) non précédée de coagulation. Réaction neutre.
B. VII............	Comme le précédent (à partir du 2° jour).	Comme le précédent.

Influence de la présence ou de l'absence de l'air. — De chacun des 7 bacilles on fit des cultures parallèles aérobies et anaérobies en quantités égales (10 centimètres cubes) avec un lait frais, de qualité identique, stérilisé.

L'ensemencement fut pratiqué avec des doses égales d'une émulsion aqueuse de culture de 24 heures sur pomme de terre à 37 degrés. Toutes les cultures furent tenues à 35-37 degrés pendant au moins un mois.

En ce qui concerne la manière de faire des cultures anaérobies, je dois dire que, pour d'autres motifs, j'ai cherché à me rapprocher le plus possible des conditions réalisées dans les bouteilles de lait stérilisé dans lesquelles l'air est expulsé par une ébullition vive et prolongée, on peut dire en totalité, sans être remplacé par d'autres gaz. Pour cela, après avoir naturellement écarté toutes les méthodes de cultures anaérobies par lesquelles on n'obtient qu'une *limitation* de l'air (1), j'ai choisi entre les deux méthodes, qui, aussi bien que l'ébullition, permettent l'*exclusion absolue* de l'air, celle basée sur l'enlèvement de l'air par la pompe à mercure de préférence à la méthode consistant à chasser l'air par un courant d'hydrogène ou d'un autre gaz.

Au début je me servis des tubes de Gruber, mais, voyant que je

(1) HUEPPE, *Methoden der Backterienforschung*, 5° édition, 1891, p. 356.

n'obtenais avec ceux-ci que rarement et avec difficulté des preuves suffisantes de vide (ébullition du liquide à la chaleur de la main, disparition de l'écume à petites bulles et formation de grosses bulles éclatant rapidement, son métallique du liquide projeté contre les parois du tube), j'ai cherché à modifier les tubes de Gruber de la manière indiquée dans le dessin ci-joint (1), afin de pouvoir adapter l'éprouvette directement au tube de caoutchouc de la pompe, sans l'intermédiaire d'un bouchon de caoutchouc qui n'est pas toujours de bonne qualité et qui ne s'adapte pas toujours parfaitement soit à l'embouchure de l'éprouvette, soit au tube de verre qui le traverse.



L'éprouvette que j'employai comme ballon de culture n'a, grâce au dessin, pas besoin de description; le procédé adopté pour obtenir le vide avec la pompe à mercure est identique à celui préconisé par Gruber (2).

Cette espèce d'éprouvette présente, en outre, comparée aux tubes de Gruber, l'avantage de pouvoir faire rentrer facilement l'air dans les cultures sans risquer de les contaminer. En effet, si après avoir pratiqué l'ensemencement (au moyen d'une longue aiguille de platine montée sur une mince baguette de verre qui puisse traverser le col de l'éprouvette), on taille la partie dépassante du bouchon de ouate et qu'on en enfonce le reste après l'avoir bien passé à la flamme, jusqu'à l'étranglement *a* du col de l'éprouvette, et que l'on étire ensuite à la lampe le col lui-même en un point supérieur *b*, on peut, le vide une fois obtenu, fermer l'éprouvette à la lampe en *b* au lieu de *a*; de cette façon, lorsqu'on veut faire rentrer l'air, il suffit de casser la pointe et l'on obtient une culture aérobie préservée de toute contamination ultérieure grâce au tampon de coton qui se trouve placé au-dessous de l'ouverture. Il est nécessaire que le col soit muni d'un étranglement aussi en *a* pour arrêter le bouchon de ouate quand l'air fait irruption.

J'observe encore qu'en poussant la ouate au-dessous du point *b*, qui servira à la fermeture, on empêche que ce point ne soit mouillé par des bulles de liquide pendant que l'on fait le vide, ce

(1) En parcourant la littérature, je vois qu'un tube semblable a déjà été proposé par Roux pour les cultures anaérobies en plaques (*Annales Pasteur*, I, 1887). Il est étonnant que les principaux auteurs et traités de bactériologie n'en parlent pas, ce qui ferait penser que l'on n'a pas su en apprécier les avantages.

(2) *Centralblatt für Bakteriologie*, I, 1887.

qui exposerait le verre à se fendre au moment de la fermeture à la lampe.

Ce système de cultures anaérobies m'a donné des résultats très satisfaisants. La meilleure preuve de l'existence et de la conservation du vide est fournie par le fait que, toutes les fois que les cultures étaient retirées de l'étuve pour quelques instants, il se produisait une vive ébullition ; ce qui arrive évidemment parce que, à la suite de l'abaissement de la température ambiante, les vapeurs d'eau qui saturent le vide à 37 degrés se condensent plus vite que le liquide ne se refroidit lui-même, et que l'équilibre de pression dans l'intérieur de l'éprouvette est ainsi détruit pour quelque temps.

Lorsque ce phénomène de l'ébullition spontanée manquait ou lorsque les cultures aérobies et anaérobies se comportaient d'une manière peu dissemblable, je répétais l'expérience 2 à 3 fois avec le même microorganisme, craignant que le vide n'eût pas été obtenu au degré désiré.

Les peu de cas d'insuccès m'ont encore plus convaincu de l'excellence de la méthode.

Quand la culture anaérobie s'était maintenue inaltérée pendant toute la durée de l'expérience, je brisais le bout scellé de l'éprouvette, ainsi qu'il a été dit plus haut, et je laissais la culture au contact de l'air, pour vérifier si les germes étaient encore en vie et actifs. J'ajouterai que ce contrôle m'a toujours donné des résultats positifs ; en effet, après la rentrée de l'air, le lait s'altérait en présentant les mêmes caractères et dans un temps approximativement égal que celui des cultures aérobies respectives ; indice manifeste que les germes n'avaient été ni détruits ni atténués par l'exclusion de l'air, mais simplement entravés dans leur croissance.

Les résultats de mes expériences peuvent être résumés dans le tableau suivant, dans lequel il est tenu compte, pour chaque bactérie, seulement de l'expérience dans laquelle l'influence de l'anaérobiose s'est manifestée avec le plus d'intensité.

Tableau II

	Aérobiose	Anaérobiose
B. I (*B. lactis niger*).	Coagulation le 2e jour. Réaction neutre. Dans la suite, peptonisation rapide.	Inaltéré encore après 2 mois.
B. II (*B. lactis thermophilus*)........	Coagulation le 8e jour. Réaction acide.	Comme dans la culture aérobie.
B. III..............	Coagulation en 2 jours. Réaction neutre. Dans la suite peptonisation rapide.	Inaltéré encore après 1 mois.
B. IV..............	Comme le précédent.	Comme le précédent.
B. V...............	Comme le précédent (à partir du 4e jour).	Coagulation en 12 jours. Réaction faiblement acide. *Aucune peptonisation*, même après 2 mois.
B. VI..............	Coagulation en 3 jours. Réaction acide. Aucune peptonisation.	Comme dans la culture aérobie (mais avec un retard de 5 jours).
B. VII.............	Comme le précédent (à partir du 2e jour).	Comme dans la culture aérobie (mais avec un retard de 15 jours).

Me basant sur ces résultats, il me semble intéressant de constater :

I. *Les bacilles, appartenant au groupe des* Subtilis *ou des* Tyrothrix, bien que semblables *entre eux à l'égard de beaucoup de caractères biologiques, se comportent diversement à l'égard de la fermentation du lait, suivant le degré de la température ou de l'aérobiose.*

Ceci rappelle les observations analogues de Hansen concernant la manière de se comporter des Saccharomycètes dans les fermentations des céréales (1).

II. *Les bacilles qui, à des températures élevées, fonctionnent comme ferments lactiques* (*en coagulant le lait par acidification sans redissoudre plus tard le coagulum*), *fonctionnent à températures plus basses comme bactéries peptonisantes* (Bac. VI et VII).

Contrairement à ce que pense de Freudenreich (2),

---

(1) *Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie-München*, 895, I, Heft. — II, Theil ; *Studien über die Hefearten*.

(2) *Note du traducteur.* — M. Gorini fait erreur en me faisant dire que l'existence de bactéries pouvant attaquer tant la lactose que la caséine n'était pas connue. Je sais fort bien que Duclaux déjà avait constaté que certains de ses *ferments* de la caséine décomposaient aussi le sucre de lait, et que

l'existence de bactéries capables d'attaquer tant la lactose que la caséine a déjà été reconnue par Duclaux et a récemment été démontrée par moi également à l'égard de bactéries qui, comme le *Bacillus prodigiosus*, le *B. indicus*, le *Proteus mirabilis* et l'*Ascobacillus citreus* (1), coagulent le lait en même temps par acidification et par la production de présure.

La manifestation ou la prédominance de l'une ou de l'autre action dépend des conditions vitales dans lesquelles se trouvent les bactéries.

Il ne s'agit pas d'une transformation, comme le pense Winckler, mais d'une limitation de fonctions. La température élevée est favorable à la multiplication des bacilles en question, ce qui donne lieu, s'ils sont capables d'attaquer la lactose, à une forte production d'acide lactique (Bac. VI et VII), lequel, en sa qualité d'élément disgénésique, s'oppose aux autres manifestations vitales des bactéries, ce qui fait que la caséine n'est pas attaquée. C'est si vrai que, lorsqu'on neutralise le lait, ainsi que l'a fait de Freudenreich, la peptonisation intervient.

III. *L'absence de l'air fait spécialement obstacle à la peptonisation de la caséine.* — Ceci est un fait qui résulte non seulement des faits consignés dans le tableau II (V. spécialement le Bac. V), mais encore mieux de ce que j'ai eu l'occasion d'observer au cours des nombreuses cul-

---

Kayser a montré que les *ferments lactiques* deviennent plus actifs quand on additionne le milieu de peptone et que les bacilles cités par M. Gorini, qui sont des bactéries peptonisantes, peuvent aussi produire de l'acidité aux dépens du sucre. Mais il ne s'agissait dans ces cas que de fonctions *accessoires*, comme quand un bacille qui n'est pas un vrai *ferment* butyrique produit un peu d'acide butyrique dans ses cultures. Jamais on n'a considéré un *ferment* de la caséine de l'espèce des *Tyrothrix* comme un *ferment* lactique, parce qu'il se montrait susceptible de vivre aussi aux dépens de la lactose. Ce qui caractérise ces derniers, c'est le fait que leur fonction *principale* est d'attaquer le sucre de lait ; c'est la fonction qui, lorsque les conditions nécessaires se rencontrent (présence de sucre), se manifeste avec le plus d'intensité. De même, on n'avait pas l'idée de considérer ces ferments lactiques comme des ferments de la caséine, parce qu'on savait qu'il leur fallait aussi de la matière azotée pour vivre. C'est aussi pourquoi j'ai dit que mon hypothèse, d'après laquelle ce seraient les ferments lactiques qui produiraient la maturation du fromage, n'était pas sans soulever quelques objections. Le fait nouveau, à mon avis, constaté dans mes expériences, a été que les *ferments* lactiques sont aussi de vrais *ferments* de la caséine. ED. DE FREUDENREICH.

(1) *Rivista d'Igiene e Sanità publica*, IV, 1893. — *Hygienische Rundschau*, III, 1893. — *Giornale della R. Societa italiana d'Igiene*, XVI, 1894.

tures anaérobies que j'ai faites avec diverses bactéries peptonisantes ; quand le vide obtenu n'était pas parfait, on constatait bien la coagulation du lait, mais pas de peptonisation subséquente, laquelle, au contraire, se produisait rapidement dès qu'on faisait rentrer l'air dans l'éprouvette. Ici aussi il s'agit d'une limitation de fonctions.

De même dans les expériences que j'ai faites sur les divers systèmes de fermeture des bouteilles de lait stérilisé (1) il m'est fréquemment arrivé de constater que l'altération du lait infecté avec le bacille IV, qui peptonise énergiquement, et contenu dans des bouteilles munies d'une fermeture hermétique quelque peu défectueuse, s'arrêtait à la coagulation et arrivait, au plus, à la formation d'une petite couche de sérum jaunâtre qui ne faisait pas de progrès même après une incubation de longue durée à 37 degrés.

Ceci explique également le fait, que j'ai noté quelquefois comme d'autres auteurs aussi, ainsi que j'ai pu m'en convaincre par la lecture de la littérature y relative, que d'un échantillon de lait stérilisé dans une bouteille à fermeture hermétique, et dont l'altération consistait dans une simple précipitation grumeleuse de la caséine sans aucun indice de peptonisation, de sorte que le lait pouvait, à l'observation superficielle, sembler inaltéré, on peut isoler des germes doués, au contact de l'air, du pouvoir de peptoniser énergiquement la caséine.

Si nous réunissons toutes ces données, nous voyons que l'on trouve des constatations analogues dans les travaux de Liborius (2) relativement aux bactéries aérobies liquéfiant la gélatine (*B. prodigiosus*, *Proteus vulgaris*, *B. subtilis*, *Staph. aureus*, *B. anthracis*, *Spir. Finkler-Prior*, *Spir. tyrogenum*, *Spir. choleræ asiaticæ*). Celui-ci trouva, en effet, en pratiquant des cultures à l'abri de l'air, que même les espèces les plus indifférentes à l'égard de l'exclusion de l'air, c'est-à-dire celles qui sont des anaérobies facultatifs, éprouvaient cependant un affaiblissement de leur pouvoir fluidifiant.

(1) *Rivista internazionale d'Igiene*, 1895.
(2) *Zeitschrift für Hygiene*, I, 1886.

Plus récemment encore, ce fait a été observé par Sanfelice (1), qui, en continuant à cultiver dans des conditions d'anaérobiose les *Bac. proteus*, *subtilis*, *indicus*, *anthracis*, *choleræ* et le *Staph. pyogenes*, a obtenu des variétés qui ne liquéfiaient plus la gélatine même au contact de l'air.

*
* *

Il ne m'appartient pas de décider quelle est la classe de microorganismes qui a le plus d'importance pour la maturation du fromage, puisque je n'ai ni l'occasion ni les moyens d'instituer des expériences de contrôle pratiques sur une large échelle, ainsi que l'exigerait l'importance de la question, si l'on ne veut pas se borner à formuler de simples hypothèses ou inductions qui souvent sont stériles ou portent préjudice à la solution des problèmes de cette nature.

Ma contribution s'arrête à l'exposition de quelques données positives que j'ai jugé utile de faire figurer dans le débat des opinions au sujet de la prééminence à accorder aux ferments lactiques plutôt qu'aux ferments de la caséine, pour insister sur l'existence, déjà constatée par moi dans d'autres occasions, de bactéries capables d'attaquer tant la lactose que la caséine et pour démontrer que la manifestation de ces fonctions est en rapport non seulement avec la qualité des milieux nutritifs, mais aussi avec le degré de la température et de l'accès de l'air, deux facteurs qui sont aussi de la plus grande importance dans la maturation des fromages.

Étant données la complexité des phénomènes et la succession des phases aboutissant au processus de la maturation, on peut facilement comprendre comment une même espèce bactérienne peut attaquer tantôt la lactose, tantôt la caséine, selon les circonstances du moment et la phase à laquelle est arrivée la maturation.

La conséquence logique de tout ce qui précède est que, avant d'assigner à un microorganisme donné un rôle dans la maturation du fromage, il est nécessaire, pour

(1) *Annali dell' Istituto d'Igiene di Roma*, 1892.

s'en assurer, de renouveler avec toute la fidélité possible toutes les conditions ambiantes dans lesquelles il s'est trouvé ou il se trouvera dans le fromage examiné ou à fabriquer.

En négligeant ce précepte, on s'expose au danger d'un insuccès en voulant passer des expériences de laboratoire aux applications pratiques.

BIBLIOGRAPHIE DE LA MICROBIOLOGIE DES FROMAGES

Cohn, *Beiträge z. Biologie d. Pflanzen* — Bd. I, 1875, Heft. 3.

Benecke, *Passim in Landwirth. Jahrb.*, XVI, 1887 ; *Centralbl. f. Bakt.*, I, 1887, et *Milchzeitung*, 1887.

Duclaux, Fabrication, maturation et maladies du fromage de Cantal — *Annales agronomiques*, 1878.

— Le lait, études chimiques et microbiologiques — Paris, 1887 (2e éd., 1894).

— Sur le rôle protecteur des microbes dans la crème et les fromages — *Annales Pasteur*, 1893, VII.

— Principes de laiterie — Paris, 1893.

Adametz, Bakteriologische Untersuchungen und Reifungsprozess der Käse — *Landwirth. Jahrbücher*, XVIII, 1889.

— Ueber die Ursachen u. Erreger d. abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse — Bremen, 1893.

— Ueber Micrococcus Sornthalii — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abt., Bd. I, 1895.

Weigmann, Ueber die Lochbildung und Blähung d. Käse — *Milchzeitung*, XIX, 1890.

— Die Bakteriologie in Dienste d. Milchwirtschaft — *Ibidem*, XX, 1891.

— Ueber den jetzigen Stand der bakter. Forschung auf dem Gebiete des Käsereifungsprozess — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., Bd. II, 1896.

Freudenreich, Recherches préliminaires sur le rôle des bactéries dans la maturation du fromage d'Emmenthal — *Annales de Micrographie*, II, 1890, et *Landwirth. Jahrb. d. Schweiz*, V, 1891.

Freudenreich, Sur quelques bactéries produisant le boursouflement des fromages — *Annales de Micrographie*, II, 1890.

— Sur un nouveau bacille trouvé dans les fromages boursouflés (*B. Schafferi*) — *Annales de Micrographie*, III, 1891.

— Ueber den Einfluss des Luftabschlusses auf die Reifung des Emmenthaler Käses — *Landwirth. Jahrb. d. Schweiz*, VI, 1892.

— Ueber einige Versuche die Blähung der Käse zu verhindern — *Landwirth. Jahrb. d. Schweiz*, VII, 1893.

— Beitrag z. Kenntniss d. Ursachen des bitteren Käses, etc. — *Landwirth. Jahrb. d. Schweiz*, VIII, 1894.

— Sur l'*Oïdium lactis* — *Annales de Micrographie*, VI, 1894.

— Ueber den Einfluss der bei dem Nachwärmen des Käses angewandten Temperatur auf die Bakterienzahl in der Milch und im Käse — *Landwirth. Jahrb. d. Schweiz*, IX, 1895.

— Weitere bakteriologische Untersuchungen und Reifungsprozess des Emmenthaler Käses — *Landwirth. Jahrb. d. Schweiz*, VIII, 1894, et *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., Bd. I, 1895.

— Ueber den jetzigen Stand der bakteriologischen Forschung auf dem Gebiete des Käsereifungsprozesses — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., I Bd., 1895.

— Bemerkungen zu Dr. H. Weigmann's Mittheilung über den jetzigen Stand, etc. — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., II Bd., 1896.

— Ueber die Erreger der Reifung bei dem Emmenthaler Käse — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., III Bd., 1897 (due note), *Annales de Micrographie*, 1897, et *Landw. Jahrb. der Schweiz*, XI, 1897.

Marpmann, Käsegärung und Käsepilze — *Pharm. Centralhalle*, XXXIV, 1893.

— Beiträge zur Käseflora — *Zeitschr. f. angew. Mikroskopie*, II, 1896.

Baumann, Beiträge zur Erforschung der Käsereifung — *Landw. Versuchsst*, XLII, 1893.

Lloyd, Observations on Cheddar Cheese-making — *Bath and West of England Reports* for 1891, 1892, 1893 and 1894.

Henrici, Beitrag zur Bacterienflora des Käses — Emmendingen, 1894.

Bochicchio, Ueber einen Milchzucker vergärenden und Käseblähung hervorrufenden neuen Hefepilz — *Centralbl. f. Bakt.*, XV, 1894.

Pammel, An aromatic Bacillus of Cheese — Extracts from the *Jowa Agriculture Experim. Station*, 1894, Bullet. 21.

— Some bacteriological Work in the Dairy — *Ibidem.*

Baier, Ueber Buttersäuregärung — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., Bd. I, 1895.

— Die Pilzflora der Milch und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozess — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., Bd. III, 1897.

Winckler, Zur Charakterisierung der Duclaux'schen Tyrothrixarten, etc. — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., Bd. I, 1895.

Wittlin, Ueber die angebliche Umänderung von Tyrothrix tenuis in ein Milchsäurebakterium — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., Bd. II, 1896.

Bachler, Beiträge zur Erforschung des Gärungsverlaufs in der Emmenthaler Käsefabrikation — *Schweiz Landw. Centralbl.* Neue Folge, XV, 1896.

Marchal, Contribution à l'étude microbiologique de la maturation des fromages mous — *Annales de la Société belge de Microscopie*, t. XIX, 1895.

Bolley and Hall, Cheese curd inflation; its relation to the bacterial flora of fore milk — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., Bd. I, 1895.

Klecki, Ueber den Reifungsprozess der Käse — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., Bd. II, 1896.

— Ein neuer Buttersäuregärungserreger und dessen Beziehungen zur Reifung und Lochung des Quargelkäses — *Ibidem.*

Russel and Weinzirl, The rise and fall of Bacteria in Cheddar Cheese — *Centralbl. f. Bakt.*, II Abth., III Bd., 1897.

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE

ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*) (1)

Par le Dr P. MIQUEL

Uréométrie par le ferment soluble de l'urée

J'ai déjà parlé dans l'*Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour l'année 1891, page 543, du dosage de l'urée répandu dans les humeurs de l'économie au moyen de l'urase.

La méthode à suivre pour mener à bien ce dosage est d'une extrême simplicité. Elle consiste à ajouter à un volume connu de liquide à doser en carbamide un égal volume de solution diastatique, convenablement active, filtrée à la bougie de porcelaine, récente ou conservée à l'abri de l'air depuis plusieurs mois ; puis, à introduire ce mélange dans un vase hermétiquement clos, après en avoir pris le titre alcalimétrique, et à l'exposer pendant une heure dans un bain-marie réglé entre 48 et 50 degrés.

Le mélange refroidi est de nouveau titré, et la quantité de carbonate d'ammoniaque produite permet de déterminer le poids de l'urée tenu primitivement en solution.

Pour s'assurer qu'il ne reste plus d'urée à hydrater, on laisse encore pendant une seconde heure le mélange à 48-50 degrés et, dans ce cas, l'essai final doit donner exactement les mêmes chiffres que l'essai pratiqué au bout de la première heure.

Voici les résultats obtenus avec des urines d'origines diverses, pures ou étendues de moitié leur poids d'eau :

---

(1) Voir les tomes précédents de ces *Annales*.

	Urée trouvée par litre dans l'urine	
	Normale	Étendue au demi
Échantillon I. . . .	$15^{gr},7$	$7^{gr},8$
Échantillon II. . . .	11 ,5	5 ,8
Échantillon III. . . .	14 ,2	7 ,0
Échantillon IV. . . .	13 ,6	6 ,8
Échantillon V. . . .	12 ,2	6 ,0
Échantillon VI. . . .	14 ,9	7 ,4

Les quelques chiffres qui suivent, obtenus avec des échantillons normaux, dilués au demi et au tiers, démontrent bien que dans tous les cas le dosage de l'urée de l'urine par l'urase est rigoureusement exact.

	Urée trouvée par litre dans l'urine		
	Normale	Diluée au demi	Diluée au tiers
Échantillon I. . . .	$10^{gr},7$	$5^{gr},4$	$3^{gr},6$
Échantillon II. . . .	8 ,2	4 ,0	2 ,7
Échantillon III. . . .	13 ,8	6 ,8	4 ,6
Échantillon IV. . . .	14 ,7	7 ,3	5 ,0

Le procédé de dosage de l'urée par l'urase offre donc toutes les garanties de précision qu'on est en droit d'exiger; il est de beaucoup supérieur au dosage de l'urée par les méthodes connues jusqu'à ce jour, et notamment par les acides énergiques ou les hypobromites alcalins qui accusent toujours des chiffres d'urée plus élevés que ceux qu'on obtient avec le ferment soluble que j'ai isolé et préparé.

En effet, comme j'ai eu maintes fois l'occasion de le constater, l'urase ne s'attaque qu'à l'urée, et ainsi se trouve éliminé des dosages l'azote pouvant provenir de l'acide urique, des urates et d'autres substances excrétées par le filtre rénal, sur lesquelles les acides et les réactifs puissants ont une action qu'il est facile de mettre en évidence.

En mettant directement en contact l'acide urique et les produits extractifs de l'urine, débarrassés d'urée avec une solution d'urase, on n'observe aucune production de carbonate d'ammonium. La sulfourée et les urées composées sur lesquelles j'ai fait agir de même l'urase n'ont pu être dédoublées. L'urase a donc une action spécifique très limitée, qui semble bornée au pouvoir d'hydrolyser la carbamide.

Dans les liquides clairs et les urines étendues on peut aisément arriver à doser exactement l'urée à 1 décigramme par litre. Quand ils sont trop colorés, ce qui peut masquer le virage de la teinte des indicateurs, il est indispensable de décolorer ces liquides ou d'amener l'ammoniaque formée dans un excipient incolore capable de la dissoudre ou de l'absorber.

Enfin, si les liqueurs dans lesquelles on désire doser l'urée sont acides, il convient de les neutraliser ou d'y ajouter un excès de carbonate d'ammoniaque dont on tient compte ultérieurement.

Je termine ici la monographie des ferments ammoniacaux que j'ai commencée il y a déjà plusieurs années. J'ai pu démontrer dans ce travail que les ferments ammoniacaux appartenaient tant à l'ordre des bactéries qu'à l'ordre des champignons inférieurs. J'ai de même établi que ces êtres organisés agissaient sur l'urée par l'intermédiaire d'un ferment soluble, qu'on avait vainement tenté d'isoler. J'ai donné brièvement l'histoire de cette nouvelle diastase, qui offre plusieurs particularités intéressantes, que de nouvelles recherches permettront de mettre plus complètement en évidence.

REVUES ET ANALYSES (1)

Rapport de la Commission chargée de l'étude de la surlangue et de la claudication du bétail sur un moyen préventif découvert par elle (Travail de l'Institut pour les maladies infectieuses de Berlin; *Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXII, p. 257).

Le Gouvernement allemand a chargé, au mois de mars dernier, une Commission d'étudier la surlangue et la claudication, maladie qui fait, chaque année, des ravages dont le dommage se chiffre, pour l'agriculture, à plusieurs millions. Le professeur Loëffler en a dirigé les travaux.

Voici le résumé des résultats importants auxquels la Commission est arrivée :

1° Toutes les bactéries rencontrées jusqu'ici dans cette maladie n'en sont pas la cause ; elles ne sont que des hôtes fortuits. Le bacille de Sigel-Bussenius est un microorganisme pathogène fort intéressant, il est vrai, qui provoque des accidents graves du côté de l'intestin chez de jeunes veaux, mais il n'est pas le facteur étiologique de la surlangue et de la claudication. Avec de la lymphe ne contenant pas de bactéries on peut reproduire la maladie sous une forme typique. Dans une telle lymphe on trouve divers éléments figurés, mais on n'y rencontre pas non plus de protozoaires pouvant être considérés comme la cause de la maladie;

2° Les bœufs et les porcs sont, ainsi que le démontre l'expérimentation, très sensibles à l'infection. Il n'a pas été possible, au contraire, d'infecter des moutons et des chèvres, non plus que les chiens, les lapins, les cobayes, les souris des champs et des maisons et les poules ;

3° Le mode de transmission le plus sûr consiste à injecter la lymphe des pustules dans le sang. L'infection est aussi amenée assez sûrement lorsqu'on injecte la lymphe dans la cavité abdominale et dans les muscles, ou lorsqu'on la frotte sur la muqueuse buccale après y avoir pratiqué quelques lésions avec un instrument pointu. Les inoculations cutanées et sous-cutanées sont incertaines. Chez les animaux infectés par la voie intraveineuse on voit se produire en 1 à 3 jours, selon la virulence et la quantité de la

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

lymphe injectée, d'abord des pustules dans la bouche avec accompagnement de fièvre, et, chez les vaches laitières, aux pis ; aux pieds les pustules ne se montrent que 1 à 2 jours plus tard. Les pustules du pis et des pieds sont donc produites par le virus circulant dans le sang et non pas par une infection directe de la peau. Avec les pustules le virus disparaît du sang ;

4° 1/5000 de centimètre cube de lymphe fraîche suffit pour l'injection ; de moindres doses, jusqu'à 1/20000 de centimètre cube, sont incertaines dans leurs effets ; les doses plus petites encore sont inefficaces ;

5° Le chauffage à 37 degrés pendant 12 heures et à 70 degrés pendant 1/2 heure rend la lymphe inefficace, de même qu'une dessiccation de 24 heures de durée à une température estivale. Dans la glacière, la lymphe renfermée dans des tubes capillaires de verre reste virulente 15 jours, quelquefois même plus longtemps. Quelques germes peuvent rester vivants 8 et 9 semaines. Il faut alors employer de plus fortes doses pour produire l'infection.

6° Contrairement à l'opinion généralement acceptée par les autorités vétérinaires, il a été démontré que les animaux qui ont eu la maladie acquièrent l'immunité 2 à 3 semaines après être tombés malades. Il y a des animaux qui, de nature, sont réfractaires, tandis que d'autres sont extrêmement sensibles à l'infection. Ces derniers n'acquièrent pas encore l'immunité par une première atteinte de la maladie, mais seulement par une seconde.

Dans le sang des animaux devenus réfractaires il existe des substances qui, mélangées avec de la lymphe fraîche, rendent celle-ci inefficace lorsqu'on l'injecte à des animaux sensibles ;

7° On peut immuniser artificiellement les bœufs et les porcs, en leur injectant soit de la lymphe chauffée jusqu'à ce qu'elle ait perdu sa virulence soit un mélange de lymphe et de sang d'un animal devenu réfractaire par une première atteinte de la maladie. La plupart des animaux acquièrent l'immunité à la suite d'une seule injection. Ces injections préventives ne rendent pas les animaux sensiblement malades ;

8° Il est donc prouvé scientifiquement que l'on peut combattre la surlangue et la claudication à l'aide d'inoculations préventives.

E. F.

GIOVANNI PEREZ. — **De la manière de se comporter du système ganglionnaire lymphatique par rapport aux microorganismes** (*Annali d'Igiene sperimentale*, VII, p. 275).

Nombreuses sont les recherches qui ont porté sur la présence de microorganismes dans les organes d'animaux sains, présence

qui expliquerait certains faits qui ne deviennent compréhensibles qu'à l'aide de la théorie du *parasitisme microbique latent*. Les recherches sont excellemment résumées par M. Perez dans son travail. On peut dire, en somme, que, bien que les organes n'aient pas été toujours trouvés stériles, la majorité des expérimentateurs incline à croire que l'absence de microorganismes est la règle du moins quand il s'agit d'organes sains. L'auteur a pensé, avec raison, qu'il y aurait intérêt à étendre ces recherches d'une manière systématique aux ganglions lymphatiques négligés par la plupart des expérimentateurs. Il a, à cet effet, opéré sur un nombre considérable d'animaux d'espèces diverses. Les différents ganglions, recueillis avec des précautions rendant une infection fortuite impossible, étaient pris sur l'animal que l'on venait de tuer et introduits dans un tube d'agar ou de gélatine après avoir été coupés en morceaux avec des ciseaux stérilisés. Le résultat de ces expériences fut très intéressant, car, dans la plupart des cas, il y eut croissance de bactéries, ainsi que le montre le tableau suivant :

SUJETS D'EXPÉRIENCES ET NOMBRE DES ANIMAUX		RÉSULTAT NÉGATIF	RÉSULTAT POSITIF
Cobayes............	49	6	43
Lapins	16	2	14
Rats	9	2	7
Chiens.............	3	—	3
Bœufs..............	3	—	3
Veaux...............	2	—	2
Pigeons	2	—	2
Agneaux	1	—	1
Cadavres humains...	3	—	3
Total...........	88	10	78

Ils ne paraissent, toutefois, pas être très nombreux : de 6-20-30 dans les ganglions sous-cutanés et de 6-10 dans les ganglions mésentériques. Les espèces rencontrées furent au nombre de 12 : Sarcine *a*, Sarcine jaune, Bac. similo-typhique, Staph. pyog. albus, Bac. mesentericus fuscus, Bacillus mesentericus ruber, Bacterium *b*, Bacterium *c*, Micrococcus flavus liquefaciens, Bacterium *d*, Staph. pyog. aureus, Bact. Zopfii, microorganismes dont l'auteur donne une description détaillée. En frottant la peau de l'animal avec des cultures de Staph. pyogène doré ou de Bac. prodigiosus, M. Perez constata leur passage dans les ganglions sous-cutanés. Voici d'ailleurs les conclusions de son travail :

1° Le système ganglionnaire lymphatique de l'organisme sain,

tant de celui des animaux que de l'homme, peut contenir dans son tissu des microorganismes soit saprophytes, soit pathogènes, sans que l'organisme qui les héberge en ressente aucun dommage.

Tous les autres organes de l'économie animale, comme aussi le sang des animaux dont l'état est normal, sont presque toujours stériles ;

2° Ces microorganismes se trouvent dans les ganglions en quantité plutôt peu considérable, soit sous forme bacillaire, soit sous forme de spores ou aussi de granulations, et sont capables, quand on les transporte sur des terrains de culture favorables, de s'y développer ;

3° Ces germes, y compris les pathogènes, paraissent être dans l'intérieur du parenchyme glandulaire dans un état d'adaptation physiologique, pourrait-on dire, et, inoculés directement avec le tissu qui les contient à des animaux, ils ne produisent aucune modification pathologique appréciable. Mais, cultivés sur les milieux de cultures ordinaires, ces microorganismes pathogènes y acquièrent un degré modéré de virulence ;

4° Les germes en question ne se rencontrent pas pendant la vie intra-utérine, il est nécessaire que l'individu ait été en contact avec l'air extérieur pour que l'on constate leur présence dans les ganglions lymphatiques ;

5° Ils y pénètrent par les voies lymphatiques à travers les surfaces cutanées et muqueuses, grâce aux lésions de continuité qui s'y rencontrent souvent.

Ils peuvent cependant aussi pénétrer dans notre organisme par la surface d'un revêtement intact et vont se fixer dans les ganglions lymphatiques ;

6° Le pouvoir du système ganglionnaire lymphatique d'arrêter et de conserver vivants, ce que ne font pas d'autres organes, pour un temps plus ou moins long, et sans que l'organisme en ressente aucun dommage, les germes qui réussissent à franchir les barrières cutanées et muqueuses, démontre qu'il existe dans notre organisme un microbisme latent localisé dans le système lymphatique ganglionnaire seulement.

E. F.

Dr Fr. Mennes. — **Le sérum antipneumococcique et le mécanisme de l'immunité du lapin à l'égard du pneumocoque** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXV, p. 413).

Les travaux d'Emmerich, S. et F. Klemperer ont, on le sait, établi la possibilité d'immuniser le lapin contre le pneumocoque de Fränkel et le fait que le sérum des lapins ainsi traités jouit à son tour de propriétés immunisantes. Mais les avis des expérimentateurs diffèrent en ce qui concerne la nature de cette immunisation.

Ainsi, d'après Foà et Carbone, le sérum préviendrait seulement l'infection. D'après Emmerich et Fowitzky, il exercerait aussi une action curative sur l'infection déjà produite. G. et F. Klemperer vont encore plus loin: non seulement le sérum préviendrait et guérirait l'infection, mais il combattrait aussi l'intoxication.

Issaëf conteste ce dernier point, mais il est d'accord quant à l'action préventive. Mosny n'attribue aucune valeur au sérum. Arkharow admet une action du sérum, mais conditionnelle seulement; il n'agirait qu'injecté en même temps et au même endroit que le virus ou directement dans le sang. Injecté, comme l'a fait Mosny, à un autre endroit que le virus par la voie sous-cutanée, il n'exercerait aucune action.

Pour jeter quelque lumière sur ces questions, l'auteur a étudié :

1° Le caractère et la virulence des pneumocoques qu'il a employés, ainsi que leurs toxines ;

2° L'immunisation des lapins et le mécanisme de cette immunisation ;

3° L'immunisation d'animaux plus grands, comme la chèvre et le cheval au point de vue des résultats que l'on peut obtenir pour la prévention et la guérison de l'infection, ainsi que pour la neutralisation des toxines.

M. Mennes s'est servi de deux cultures de pneumocoques, l'une isolée d'un cas de pneumonie, l'autre de la salive d'une personne saine. Les deux présentaient les mêmes caractères :

1° Forme ovale en lancette ; diplocoques en chaînettes de longueurs diverses. Cette dernière forme se trouvait fréquemment dans les cultures de sérum de lapin ;

2° Les deux étaient pourvus de capsules très typiques, visibles à l'état naturel et encore mieux après coloration. Une des meilleures colorations consiste dans l'emploi d'une solution à 2 p. 100 de violet de gentiane suivi d'une décoloration rapide dans l'acide acétique à 1 ou 2 p. 100 ;

3° Ces deux pneumocoques se coloraient d'après Gram ;

4° Aucune croissance à la température de la chambre ;

5° Très mauvaise croissance dans le bouillon (à l'opposé du streptocoque). Il faut, pour obtenir un développement, ajouter quelques gouttes de sérum, de cheval par exemple ;

6° Manque de croissance sur agar, même à l'étuve. La croissance se fait bien si l'on étale quelques gouttes de sang à la surface de l'agar ;

7° Virulence à l'égard du lapin et diffusion par la voie sanguine. La rapidité de la mort dépend de la virulence et de la quantité injectée.

Le pneumocoque perdant très vite sa virulence lorsqu'on le cultive sur des milieux de culture artificiels, M. Mennes pratiqua des passages par l'organisme animal (140 passages pour le pre-

mier et 165 pour le second) en l'inoculant de lapin à lapin. Leur virulence était telle que 1/100.000.000 de centimètre cube de sang suffisait pour tuer un lapin de grosseur moyenne en 24-36 heures. Ils étaient donc extrêmement virulents.

En ce qui concerne les toxines, on les trouve dans les cultures, mais il faut toujours employer des doses assez fortes de cultures filtrées ou chauffées (60 degrés à 65 degrés). La toxicité n'augmente pas sensiblement avec la virulence des cultures. Les effets les plus marqués des toxines sont la fièvre et la perte de poids ; quelquefois on constate de la diarrhée et une espèce de gangrène à l'endroit de l'injection.

Pour ce qui est de l'immunisation, l'auteur a constaté qu'un lapin qui a survécu à une première injection et repris son poids original accuse des symptômes beaucoup plus légers lors d'une seconde injection. La troisième est encore mieux supportée et, après quelque temps, l'animal supporte des doses qui, au début, l'auraient immanquablement tué. En un mot, il y a accoutumance. Un certain nombre d'animaux succombent toutefois pendant l'immunisation. Les uns sont aussi vaccinés en 1 à 2 semaines, tandis que d'autres ne le sont qu'au bout de 1 à 2 mois. Lorsque les animaux ne réagissaient plus à la suite de l'injection d'une forte dose de toxine, on leur inoculait des doses mortelles de culture vivante. L'animal était considéré comme vacciné quand il résistait à cette inoculation.

Une fois en possession de lapins immunisés, l'auteur étudia la manière de se comporter du pneumocoque :

1° Dans le sérum du lapin normal ;

2° Dans le sérum du lapin vacciné ;

3° Dans le sérum du lapin normal additionné de corpuscules blancs normaux ;

4° Dans le sérum du lapin vacciné additionné de corpuscules blancs de lapin vacciné ;

5° Dans le sérum du lapin normal additionné de corpuscules blancs de lapin vacciné ;

6° Dans le sérum du lapin vacciné additionné de corpuscules blancs de lapin normal.

Le sérum était obtenu par centrifugation du sang défibriné. Les corpuscules blancs étaient aussi obtenus par centrifugation de l'exsudat pleural produit par l'injection de cultures mortes de staphylocoques dans la plèvre du lapin. Ces sérums étaient inoculés avec le sang d'un lapin venant de succomber à l'infection. De suite après avoir opéré le mélange, on faisait une numération que l'on répétait après différents intervalles.

Il résulte des expériences de l'auteur que le pneumocoque se développe également vite dans le sérum normal et dans le sérum de lapin vacciné. L'addition de corpuscules blancs normaux au

sérum de lapin normal n'empêche pas le développement du pneumocoque; celui-ci est, au contraire, plus rapide que dans le sérum seul. Dans le sérum de lapin vacciné additionné de leucocytes normaux, au contraire, la croissance fut sensiblement retardée; au début, on constate même une diminution. Les leucocytes de lapin vacciné, ajoutés au sérum normal, ne retardèrent pas la croissance; dans le sérum de lapin vacciné, au contraire, additionné de leucocytes de lapin vacciné, il y eut diminution et retard de croissance. Il semblerait donc, dit l'auteur, que l'élément immunisant réside dans le sérum et non dans les leucocytes. Mais comment se fait-il que le pneumocoque se soit aussi bien développé dans le sérum de lapin vacciné seul que dans le sérum normal. Il y a là un point qui nous paraît encore mal élucidé.

Dans le sérum normal additionné de leucocytes, l'auteur ne constata jamais de phagocytose, mais bien dans le sérum de lapin vacciné.

De toutes ces expériences, M. Mennes conclut *que l'immunité du lapin à l'égard du pneumocoque est due à une modification de son sérum. A cette modification est due la phagocytose par les leucocytes.*

L'auteur constata ensuite, comme Foà et Carbone, G. et F. Klemperer, que de petites quantités de sérum de lapin immunisé confèrent l'immunité à d'autres lapins (2 centimètres cubes). Il immunisa alors des chèvres et un cheval par le même procédé, c'est-à-dire par l'inoculation répétée de doses croissantes de cultures chauffées.

Deux chèvres donnèrent un sérum dont 2 centimètres cubes suffisaient pour vacciner un lapin contre une dose cent mille fois mortelle. Le cheval donna encore de meilleurs résultats. Son sérum avait, en effet, des propriétés préventives, curatives et antitoxiques. Il protégeait les lapins contre une dose cent mille fois mortelle à la dose de 1 centimètre cube; la même dose injectée sous la peau 4 heures après inoculation de la dose cent mille fois mortelle, alors que la température s'était déjà élevée, amenait encore la guérison: lorsqu'on l'injecte directement dans la jugulaire, 1/2 centimètre cube suffit dans ce cas. Les propriétés antitoxiques sont démontrées par le fait que la toxine ne produit pas de fièvre lorsqu'on injecte en même temps un peu de sérum.

E. F.

Dr Henry Korik. — **La bactériologie de la coqueluche** (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXII, p. 222)

L'existence du parasite de la coqueluche n'a jusqu'ici pas été démontrée d'une manière irréfutable, bien que le caractère conta-

gieux de cette affection en rende la nature parasitaire certaine. Quelques auteurs, comme Deishler et plus récemment Kurloff, ont borné leurs recherches à l'examen microscopique du sputum, partant de l'idée que l'agent infectieux n'est ici pas une bactérie et que, par conséquent, les cultures sont inutiles. Kurloff croit aussi y avoir découvert un protozoaire, mais rien n'est moins certain que le rôle étiologique de ce microorganisme. Il y a quelques années déjà, Afanassjew avait décrit un bacille particulier qu'il avait trouvé dans le sputum de malades atteints de coqueluche. Ce microorganisme fut retrouvé par Szemetzchenko; Cohn et Kenmann, au contraire, ne réussirent pas à le cultiver et en conclurent qu'il n'est qu'un saprophyte accidentel. En général, la plupart des expérimentateurs ont trouvé des diplocoques. Dans ses propres recherches, l'auteur s'est servi du sputum caractéristique de la coqueluche, en laissant de côté les cas compliqués de bronchite ou de pneumonie; comme milieu de culture, il employa surtout le liquide d'hydrocèle, qui a l'avantage d'être peu propice à la croissance de divers saprophytes. Dans presque tous les cas, il peut cultiver sur ce milieu, souvent avec des diplocoques (Diplococcus lanceolatus) et streptocoques, un bacille très caractéristique qu'il considère comme identique à celui d'Afanassjew. Les résultats négatifs obtenus par d'autres auteurs tiendraient, pense-t-il, à l'emploi de milieux nutritifs peu appropriés à l'isolement de ce microorganisme.

Dans les préparations de sputum, colorées au bleu alcalin de Loëffler, il est facile de le retrouver.

En culture pure, ce bacille forme sur les milieux nutritifs préparés avec du liquide d'hydrocèle une couche d'un blanc de perle avec des granulations très fines; lorsque le liquide d'hydrocèle est additionné de bouillon sucré, les colonies ne sont plus d'un blanc aussi délicat, mais plus crémeux, comme les colonies diphtéritiques.

Sur gélose, les cultures forment une couche opaque blanc de perle. Les colonies sont, sur ce milieu, blanchâtres à la lumière incidente; elles sont jaune paille et olivâtres dans la profondeur. Elles sont de forme arrondie, mais irrégulières et granuleuses.

Dans la gélatine, les cultures par piqûre ressemblent beaucoup à celles du streptocoque, avec forme en tête de clou; elles ne liquéfient pas la gélatine.

Les colonies sur gélatine ont des contours arrondis irréguliers; elles sont blanchâtres ou jaunâtres à la lumière réfléchie, olivâtres à la lumière incidente; elles sont granuleuses et ne prennent pas un grand développement.

Dans le bouillon de peptone, il se forme un dépôt au fond du ballon; après une semaine, le bouillon se recouvre d'une pellicule.

Ce bacille croît très bien à l'abri de l'air. Il est mobile. Coloré avec le bleu de Loëffler, il se montre sous forme d'un bacille court, très mince, plus mince que celui de la diphtérie et n'ayant pas plus de 1/3 ou 1/2 de sa longueur. Il est long de 0,8-1,7 μ et long de 0,3 à 0,4 μ. Coloré, il présente une fine granulation. On voit aussi des formes involutives et massives, qui se colorent plus fortement. Contrairement à ce qu'a vu Afanassjew, l'auteur n'a pas constaté la présence de spores; ces granulations ont peut-être été prises pour celles-ci par M. Afanassjew. M. Koplik a constaté une action pathogène sur la souris, à la suite d'injections sous-cutanées, mais pas sur le cobaye ni sur le lapin, sauf dans le cas d'injections intraveineuses, qui, chez ce dernier animal, produisent de la suppuration dans les articulations. Mais jamais l'auteur ne constata de lésions du côté des poumons, ni de convulsions.

Le rôle étiologique de ce microorganisme dans la coqueluche est donc loin d'être prouvé; cependant sa présence si fréquente mérite l'attention, et il est à espérer que des recherches ultérieures réussiront à élucider cette question.

E. F.

Dr Eduards Germano. — **La transmission de la diphtérie par l'air** (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XXV, p. 439)

La transmission de la diphtérie se fait le plus souvent par contact direct ou indirect. On connaît même des cas dans lesquels la transmission s'est faite après plusieurs années par le moyen d'objets souillés par des produits diphtéritiques. Le bacille de Loëffler semble donc doué d'une grande résistance à la dessiccation, et ceci pourrait rendre aussi une infection par l'air possible par des poussières, par exemple, qui contiendraient ce microorganisme. Ici cependant, les auteurs ne sont pas d'accord; les uns, comme Flügge, Pennie et Scagliosi, ont trouvé que le bacille diphtéritique à l'état de poussière assez ténue pour être transportée par l'air perdait sa vitalité, et n'admettent pas les contagions par l'air; d'autres, au contraire, comme Reyes, ont vu ce microorganisme mélangé à du sable rester vivant plus de 15 jours et même plus de 100 jours dans de la poussière de mortier.

L'auteur a repris ces expériences; pour cela, il mélangeait le bacille diphtéritique avec diverses sortes de poussières, dont il faisait des plaques d'agar après des temps divers; quand le nombre des bacilles avait notablement diminué, l'ensemencement de la poussière était fait directement dans du bouillon. Pour infecter les poussières, M. Germano se servait de cultures de bouillon, ayant constaté que, dans des émulsions de culture sur agar, le bacille de Loëffler serait moins résistant à la dessiccation, ce

qui tiendrait, pense-t-il, à ce que, lorsqu'on prépare une semblable émulsion, les bacilles gonflent dans l'eau et perdent leur enveloppe protectrice. Les poussières infectées étaient desséchées dans des boîtes de pétri, ce qui prenait de 1 à 2 jours; une seconde partie était aussi plus rapidement desséchée à l'aide de l'acide sulfurique.

Suivant les poussières employées et surtout suivant la quantité de celles-ci, les résultats furent un peu différents (une plus grande quantité de poussière exercerait une action protectrice à l'égard de l'oxygène); mais toujours le bacille diphtéritique se montra très résistant. Jamais il ne périt avant 20 à 25 jours, et surtout il fut retrouvé vivant après 40 et 60 jours. Ces derniers chiffres sembleraient être la limite de la durée de sa résistance à la dessiccation dans les conditions dans lesquelles s'était placé l'auteur.

Voici, d'ailleurs, ses conclusions :

1° Le bacille diphtéritique peut résister longtemps à la dessiccation soit dans les membranes (Roux et Jersin, Park, Loëffler, Germano), soit dans les tissus et les étoffes (Loëffler, d'Epine et de Marignac), soit dans les poussières (Reyes, Germano);

2° La résistance des bacilles n'est pas influencée lorsqu'on active la dessiccation, même par l'acide sulfurique, ni dans les poussières (Germano);

3° Le bacille diphtéritique résiste d'autant mieux que la quantité de poussières qui l'entourent est plus grande, peut-être parce qu'il est alors un peu protégé contre l'oxydation ;

4° A l'état de dessiccation absolue, le bacille diphtéritique peut conserver sa virulence entière jusqu'à sa mort;

5° L'air peut transporter des bacilles diphtéritiques vivants par les poussières (Reyes, Germano).

E. F.

Dr W. Kuhnan. — **Des résultats donnés par l'examen bactériologique du sang dans le diagnostic clinique** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXV, p. 492).

Dans ce travail, l'auteur reprend d'une façon très détaillée la question de savoir jusqu'à quel point l'examen du sang, par les cultures, peut servir à établir le diagnostic clinique. M. Kühnan a, avec raison, abandonné l'ancien procédé consistant à prélever le sang de la pulpe du doigt, procédé qui ne met que difficilement à l'abri des contaminations fortuites, étant donnée la difficulté qu'il y a de désinfecter sûrement la peau. Il recueillait, par conséquent, le sang dans une veine mise à nu et le mélangeait avec du bouillon qui servait ensuite à faire des plaques. Ces recherches furent étendues à des états septo-pyémiques, à l'endocardite, à des

processus purulents localisés, à des infections mixtes tuberculeuses septiques, à la tuberculose miliaire, à l'influenza et à la pneumonie. Voici les résultats :

Typhus. — Sur 41 cas examinés, il fut possible de déceler le bacille typhique onze fois. La quantité de sang examiné était, il est bon de le dire, assez considérable, 5-10 centimètres cubes ; malgré cela, le nombre des colonies fut toujours minime, de 2 à 9.

Infections septo-pyémiques. — Dans 23 cas très graves, dont 19 se terminèrent par la mort, on ne trouva de bactéries dans le sang que trois fois (deux fois des streptocoques et une fois le staphylocoque pyogène doré).

Endocardite ulcéreuse. — Dans 12 cas examinés, on ne trouva le staphycoloque pyogène doré qu'une seule fois ; encore le sang avait-il été, dans ce cas, recueilli immédiatement avant la mort.

Rhumatisme aigu (endocardite bénigne, tuméfaction de la rate, leucocytose, néphrite, pneumonie lobulaire, pleurésie). — Sur 67 cas, la culture ne donna qu'une seule fois des staphylocoques, mais dénués de virulence, que l'auteur est porté, par conséquent, à considérer comme le résultat d'une infection fortuite des plaques.

Processus purulents localisés. — Ici, dans aucun des 22 cas faisant l'objet de cet examen, il ne fut possible de trouver de bactéries dans le sang.

Phtisie pulmonaire de tuberculose miliaire. — Dans ces cas, en outre des plaques, le sang était directement inoculé à des animaux d'expérience. Douze cas furent examinés, sur lesquels une seule fois le résultat fut positif ; le cobaye, inoculé avec 4 centimètres cubes de sang, mourut tuberculeux après 3 mois. Le cas dont il s'agissait était une phtisie pulmonaire chronique suivie d'une tuberculose miliaire. La prise de sang eut lieu au moment de l'apparition de cette dernière.

Pneumonie croupeuse aiguë. — Dans 9 cas examinés, les plaques ne donnèrent qu'une seule fois le *Diplococcus lanceolatus ;* l'expérience sur les animaux donna deux fois un résultat positif ; dans l'un de ces cas, il s'agissait du malade dont le sang avait donné la culture du diplocoque lancéolé.

Influenza. — Sur 12 cas, ancun ne donna, dans les cultures du sang, le bacille de Pfeiffer.

Il résulte donc des recherches si consciencieuses de M. Kühnan que l'on ne peut guère espérer de résultats utiles de ce procédé de diagnostic.

E. F.

Dr Hugs Weissenberg. — **Études sur la dénitrification**
(*Archiv für Hygiene*, XXX, p. 274)

Les belles recherches de M. Winogradsky ont mis en lumière la faculté dont sont doués certains microbes de transformer les sels ammoniacaux en nitrates et en nitrites, processus que l'on a nommés nitrification. Depuis peu, on a constaté que d'autres microbes peuvent faire juste le contraire, c'est-à-dire amener une dénitrification en mettant en liberté l'azote contenu dans les nitrates et les nitrites. Ce processus n'est pas sans importance pour l'agriculture, où il se produit dans la fermentation du fumier auquel il fait perdre ainsi son azote. Wagner le premier a signalé l'importance du phénomène, et c'est à MM. Burri et Stutzer que revient le mérite d'avoir, les premiers, isolé et décrit des microbes doués de cette faculté. Ils ont trouvé dans le fumier et dans la paille deux espèces bactériennes de cette espèce auxquelles ils donnèrent les noms de *B. denitrificans* I et II. Mais, alors que le B. II pouvait produire ce phénomène à lui seul, le B. I ne pouvait le faire qu'en symbiose avec le bacille coli ou le bacille typhique. Ils constatèrent, en outre, que l'accès de l'air empêchait la dénitrification quand il s'agissait du *B. denitrificans* II, tandis que le contraire avait lieu quand le B. I était associé au bacille coli. Par contre, ces recherches n'avaient pas encore expliqué la raison intime de ce processus fermentaire, ni la raison de cette symbiose.

Un peu plus tard, le professeur Lehmann et le Dr Reumann firent l'observation que le bacille pyocyanique est également doué du pouvoir de transformer les nitrates en un gaz qui fut reconnu être de l'azote. On a donc ainsi dans chaque laboratoire un microorganisme doué du pouvoir dénitrificateur. Tout récemment, I. Schirokikh et MM. Ampola et Garino décrivirent deux autres espèces bactériennes également pourvues de cette faculté.

Dans ses expériences, l'auteur se servit du bacille pyocyanique et des deux bactéries de MM. Burri et Stutzer. Il employa comme milieu de culture un bouillon contenant, par litre, 10 grammes d'extrait de viande, 10 grammes de peptone sèche, 5 grammes de chlorure de sodium et 5 centimètres cubes de solution de soude normale. La réaction doit être alcaline, parce que, dans des bouillons acides, les nitrites exercent une action toxique intense. Les nitrates ou nitrites étaient ajoutés sous forme de nitrate ou nitrite d'ammonium. Au début de ces expériences, on employa 5 grammes p. 1000, mais plus tard une concentration de 2,5 grammes fut reconnue plus favorable.

M. Weissenberg commença par étudier la symbiose entre le bacille denitrificans I (Burri et Stutzer) et les bacilles coli et typhiques.

Il est utile de reproduire cette expérience ici :

a) B. denitrif. dans le bouillon avec nitrates : pas de gaz ni réaction de nitrites ;

b) B. denitrif. et bac. coli dans le bouillon avec nitrates : gaz ;

c) B. coli dans le bouillon avec nitrates : pas de gaz, mais réaction de nitrites ;

d) B. denitrif. dans le bouillon avec nitrites : gaz.

Il résulte de ceci que ni le b. coli, ni le B. denitrif. I ne peuvent enlever l'azote aux nitrates. Par contre, ce que Burri et Stutzer n'avaient pas remarqué, ce dernier seul est capable d'attaquer les nitrites, tandis que le bac. coli et le bac. typhique transforment les nitrates en nitrites. Or, ainsi que le montrèrent d'autres expériences, plusieurs espèces microbiennes sont douées de la même faculté que le bacille coli ou typhique, ainsi le *Proteus vulgaris* Hauser et le *Bac. vulgare* de Lehmann et Reumann, sans qu'il y ait production de gaz ; ajoute-t-on le B. denitrif. I, on voit le gaz se produire. La symbiose constatée par MM. Burri et Stutzer consiste donc en ce que les nitrates sont transformés par le bacille coli ou typhique en nitrites, qui, à leur tour, sont attaqués par le B. denitrif. I qui vit aux dépens de leur azote.

La dénitrification a donc les nitrites pour objet ; lorsqu'un nitrate donne lieu à production gazeuse d'azote, il y a ainsi deux processus : transformation des nitrates en nitrites, puis dénitrification proprement dite. Pour étudier ce phénomène, il est donc préférable d'employer des nitrites, vu que tous les microbes doués du pouvoir de la dénitrification ne sont pas aptes à transformer les nitrates en nitrites.

Le phénomène intime de la dénitrification consiste ainsi en ce que la cellule bactérienne enlève aux nitrites leur oxygène. Deux faits le démontrent :

A. La dénitrification ne se produit pas lorsque l'oxygène a libre accès. Ainsi, dans des ballons larges et plats, peu remplis de bouillon additionné de nitrites, le bacille pyocyanique, le B. denitrif. I et II ne produisent pas de gaz et n'attaquent pas les nitrites.

B. Les espèces croissent mal à l'abri de l'air dans le bouillon ordinaire, mais bien dès qu'on ajoute des nitrites, resp. des nitrates ; le fait prouve bien que les espèces dénitrifiantes n'agissent que quand le manque d'air les force, pour vivre, à extraire l'oxygène des nitrites. Quand elles ont, d'ailleurs, assez d'oxygène à leur disposition, elles laissent les nitrites tranquilles. Selon M. Weissenberg, la dénitrification représente le processus suivant : la cellule bactérienne enlève l'oxygène de la molécule $NaNO^2$, le NaOH devenu libre augmente l'alcalinité du milieu, et l'azote s'échappe sous forme de gaz. L'alcalinité et la présence de l'azote furent constatées expérimentalement.

L'auteur étudia encore l'action de l'acidité et de l'alcalinité du milieu. Il constata :

1° Que dans des solutions faiblement acides les nitrites exercent une action toxique sur ces bactéries ; la dénitrification ne peut alors pas se produire ;

2° Une solution acide de nitrates est rendue alcaline par le bac. pyocyanique ; la dénitrification commence alors ;

3° Une alcalinité trop grande diminue l'intensité du phénomène ; cependant, la dénitrification ne cesse qu'avec le degré d'alcalinité suffisant pour empêcher toute croissance bactérienne.

Voici, du reste, les conclusions de l'auteur :

1° Certaines bactéries sont douées du pouvoir, en l'absence d'oxygène libre, d'enlever l'oxygène de $NaNO^2$. Le NaOH devenu libre augmente l'alcalinité du milieu et l'azote s'échappe sous forme de gaz (dénitrification) ;

2° Quelques bactéries peuvent aussi rendre libre l'azote de $NaNO^2$. Là, toutefois, il y a succession de deux phénomènes, transformation de nitrates en nitrites, propriété appartenant à différentes espèces microbiennes, et dénitrification proprement dite ;

3° Contrairement à la dénitrification proprement dite, la transformation de nitrates en nitrites ne paraît pas être un phénomène se produisant directement aux dépens de l'oxygène des nitrates ;

4° La symbiose constatée par MM. Burri et Stutzer entre leur C. denitrif. I et les bac. coli ou typhiques consiste en ce que ces derniers transforment les nitrates en nitrites et que ceux-ci sont ensuite attaqués par le premier ;

5° L'obstacle apporté à la dénitrification par un large accès d'oxygène répond à la nature de ce processus. Les acides et les alcalis n'exercent pas d'action sur le processus lui-même, mais sur la vie et la croissance des bactéries qui prennent part à ces phénomènes.

Les intéressantes recherches montrent l'action conservatrice qu'obtiennent les agriculteurs à l'égard de l'azote en remuant le sol et en fournissant ainsi aux bactéries de la dénitrification assez d'oxygène pour qu'elles n'aillent pas le chercher ailleurs.

E. F.

BIBLIOGRAPHIE

Dr H. Van Heurck. — Traité des Diatomées

Ce savant belge (auquel l'on doit le remarquable *Synopsis des Diatomées de la Belgique*, à peu près épuisé aujourd'hui, plusieurs éditions d'un *Traité du Microscope* très estimé, et un grand nombre d'autres ouvrages) a entrepris la traduction française du *Traité des Diatomées* qu'il a récemment publié en Angleterre. Cet ouvrage contient des notions très complètes sur la structure, la vie, la récolte, la culture et la préparation des Diatomées. A côté des détails sur la physiologie de ces algues intéressantes, M. le Dr H. Van Heurck donne dans ce même livre la description et la figure de tous les genres connus, ainsi que la description et la figure de toutes les espèces trouvées dans la mer du Nord et les contrées environnantes.

L'exécution typographique de ce traité, actuellement sous presse, a été confiée à M. J.-E. Buschmann, imprimeur à Anvers, dont les impressions artistiques, renommées à juste titre, font de ce *Traité des Diatomées* une œuvre qui figurera aussi dignement dans la bibliothèque du bibliophile que dans celle de l'homme de science.

Cet ouvrage ne sera tiré qu'à un nombre très limité d'exemplaires, numérotés à la presse et portant au verso du titre le nom du souscripteur. Les exemplaires souscrits seront en outre solidement reliés en toile et à tête dorée.

Quelques fautes qui se sont glissées dans l'édition anglaise seront corrigées, et l'édition française sera mise également au courant des dernières recherches.

L'impression de ce livre, qui marche avec toute la célérité compatible avec l'exécution artistique de l'ouvrage, paraîtra vraisemblablement en juin prochain.

Se hâter de souscrire chez le Dr Van Heurck, directeur du Jardin botanique, à Anvers, Belgique.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Septembre* 1897

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 35 du 29 août au 4 septembre 1897	22.000	1.335	17°,0	8mm,2	SW	13km,9	107	52
N° 36 » 5 sept. » 11 » »	6.200	2.500	13 ,8	22 ,9	SW	12 ,3	72	53
N° 37 » 12 » » 18 » »	7.400	2.665	13 ,7	7 ,4	NE	8 ,4	67	47
N° 38 » 19 » » 25 » »	7.160	1.160	14 ,2	0 ,5	SW	7 ,6	64	65
N° 39 » 26 » 2 octobre	3.600	2.840	17 ,0	4 ,7	Var.	9 ,9	70	67
MOYENNES ET TOTAUX	9.340	2.100	15°,1	43mm,7	SW	10km,4	380	286
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Septembre 1897. Bactéries = 3.335 Moisissures = 4.665 Température = 14°,9

Analyse de l'air au Passage Saint-Pierre

Septembre 1897. Bactéries = 5.545 Moisissures = 1.735 Température = 15°,1

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Septembre* 1897

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Septembre 1897	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge	300	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant	2.590	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust	175	1.825	»	»
» mairie du IXe arrondissement	100	2.195	»	»
» » du XVe »	200	2.195	»	»
» » du XVIe »	500	2.195	»	»
» » du XIIe »	2.100	2.195	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur	10.890	83.300	T = 15°,8	»
» de la Seine à Ivry	11.250	61.730	T = 16 ,0	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	22.500	96.390	»	Haut. = 1^m^,25
» de la Seine au pont de l'Alma	26.250	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	212.500	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	7.500	75.310	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, 8, Cours de Vincennes	27.500	»	»	»
» 26, rue de Courtille	1.250	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain d'Epinay	1.250	11.390	»	»
» d'Asnières	125	1.570	»	»
6° Eaux d'Égout				
Eaux des collecteurs de Paris	8.600.000	18.050.000	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Octobre* 1897.

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 40 du 3 octobre au 9 octobre 1897 .	7.750	6.500	8°,6	3mm,3	N	11km,6	63	72
N° 41 » 10 » » 16 » . . .	8.370	5.335	12 ,6	1 ,8	SW	7 ,1	32	71
N° 42 » 17 » » 23 » . . .	2.810	830	13 ,3	»	NE	12 ,6	56	73
N° 43 » 24 » » 30 » . . .	3.290	2.165	11 ,5	»	E	5 ,8	53	88
N° » » » » » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	5.605	3.705	11°,5	5mm,1	Var.	9km,3	224	304
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies symotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (bronchite aiguë, broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Octobre 1897. Bactéries = 6.335 Moisissures = 13.335 Température = 12°,2

Analyse de l'air au Passage Saint-Pierre

Octobre 1897. Bactéries = 7.900 Moisissures = 2.165 Température = 11°,5

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Octobre* 1897.

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Octobre 1897	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge. .	92	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant.	88	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust . . .	130	1.825	»	»
» Rue de Reuilly, 74	50	2.195	»	»
» Mairie du XVIIIe arrondissement	300	2.195	»	»
» » XIXe »	1.000	2.195	»	»
» » XXe »	1.300	2.195	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	10.280	83.300	T = 11°,9	»
» de la Seine à Ivry	16.750	61.730	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	28.750	96.390	T = 12,0	Haut. = $0^m,90$
» de la Seine au pont de l'Alma.	18.750	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	805.000	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	13.125	75.310	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, 130, rue de Tocqueville	5.000	»	»	»
» 83, rue de Longchamp	210.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain d'Epinay	12.000	11.390	»	»
» d'Asnières	8.000	1.570	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	4.125.000	18.050.000	»	»

Diagnostics effectués par le Laboratoire de Bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois de novembre 1897

Le nombre total des diagnostics réclamés au Laboratoire de Bactériologie en novembre 1897 s'est élevé à 232.

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	4	1	5	6	9	15	20
De 2 à 5 ans......	8	5	13	14	12	26	39
De 5 à 10 ans......	5	6	11	12	20	32	43
De 10 à 15 ans......	»	3	3	5	5	10	13
De 15 à 30 ans......	1	6	7	8	7	15	22
De 30 à 60 ans......	»	1	1	4	3	7	8
De 60 et au dessus...	»	»	»	»	»	»	»
Age et sexe inconnus.	»	»	1	»	»	10	11
Totaux.........	18	22	41	49	56	115	156

Total des diagnostics....................	156
Angines diphtériques.....................	41
Angines non diphtériques.................	115
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	26,3 p. 100

Pendant le mois de novembre de l'année 1897, le chiffre des diagnostics effectués pour les angines douteuses s'est élevé à 156, chiffre notablement plus fort que celui (101) qui avait été publié pour le mois d'octobre. Cette augmentation du nombre des diagnostics est due à une recrudescence saisonnière de diphtérie observée à la fin d'octobre et au commencement de novembre. Cette aggravation a suffi pour porter à 26,3 p. 100 la proportion des angines à bacille Loëffler.

Tuberculose

Sur les 76 autres diagnostics réclamés au même Laboratoire, 67 ont été relatifs à des produits soupçonnés tuberculeux, parmi lesquels le bacille de Koch a été observé 28 fois.

PUBLICATIONS RÉCENTES

L. Léger. — Étude expérimentale sur les Coccidies (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 329).

E. Roze. — Sur la présence du *Pseudocommis Vitis* Debray dans la tige et les feuilles de l'*Elodea canadensis* (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 362).

E. Roze. — Le *Pseudocommis Vitis* Debray, parasite des plantes marines (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 410).

P. Carles et G. Nivière. — Influence des matières colorantes sur la fermentation des vins rouges très colorés (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 452).

E. Roze. — Sur le rôle que joue le *Pseudocommis Vitis* Debray dans les deux maladies de la vigne, l'anthracnose et l'oïdium (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 453).

J. Ray. — Action de la pesanteur sur la croissance des champignons inférieurs (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 500).

D. Freire. — Sur la fièvre jaune (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 614).

E. Roze. — Sur les maladies des bulbes de safran (*Crocus sativus*) (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 730).

M. Caullery et F. Mesnil. — Sur un type nouveau (*Metchnikovilla*) d'organismes parasites des Grégarines (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 787).

L. Dubois. — Sur une bactérie pathogène pour le Phylloxera et pour certains Acariens (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 790).

V. Oméliansky. — Sur un ferment de la cellulose (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 970).

E. Roze. — Sur la maladie des Châtaignes (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 982).

V. Oméliansky. — Sur la fermentation cellulosique (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 1131).

Charrin et H. Claude. — Atrophie musculaire expérimentale par intoxication pyocyanique (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXXV, p. 1133).

Dr J.-C.-Ph. Scheffer. — Beitrage zur Frage der Differenzirung des *Bac. aërogenes* u. *Bac. coli communis*. Contributions à la question de la différenciation du Bac. aërogenes et du Bac. coli communis (*Archiv für Hygiene*, XXX, p. 291).

Dr Max Morris. — Studien über die Production von Schwefelwasserstoff, Indol und Mercaptan bei Bakterien. Etudes sur la production d'hydrogène sulfuré, d'indol et de mercaptan par les bactéries (*Archiv für Hygiene*, XXX, p. 304).

Dr Oscar Bail. — Ueber leukocide Substanzen in den Stoffwechselproducten des *Staphylococcus pyogenes aureus*. Sur les substances leucocides dans les produits de culture du staphylocoque pyogène doré (*Archiv für Hygiene*, XXX, p. 348).

A. Stutzer u. R. Hartleb. — Das Bacterium der Maulund Klanensembre. Le bactérium de la surlangue et claudication (*Archiv für Hygiene*, XXX, p. 372).

Lyder Nicolaysen. — Zur Pathogenität und Giftigkeit des Gonococcus. Contribution à la pathogénéité et la virulence du gonocoque (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1re section, XXII, p. 305).

A. Pfuhl. — Drei neue Fülle von Gehirninfluenza. Trois nouveaux cas d'influenza cérébrale (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XXVI, p. 112).

Asher et E. Hirsemann. — Beitrage zur Schweinesembe und ihrer Beziehung zur Tuberculose. Contribution à la connaissance de la peste porcine et de ses rapports avec la tuberculose (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXVI, p. 143).

Dr Instyn Karlinski. — Zur Frage der Infektion von Schusswunden durch mitgerisseue Kleiderfetzen. Contribution à la question de l'infection des blessures d'armes à feu par des lambeaux d'habillement (*Centralblatt für Bakteriologie*, XXII, p. 310).

Dr J. Kister. — Typhusahnlicher Bacillus aus typhusverdachtigem Brunnenwasser. Sur un bacille similo-typhique isolé d'une eau suspecte d'avoir propagé le typhus (*Centralblatt für Bakteriologie*, XXII, p. 497).

L'Éditeur-Gérant: C. NAUD.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

DE LA REPRODUCTION DES DIATOMÉES

PAR

M. L'abbé F. CASTRACANE

Quiconque s'attache à l'étude du grand livre de la Nature et quel que soit le genre d'organisme qui fasse spécialement le sujet de ses recherches, doit, tout d'abord, avoir en vue et rechercher le mode de reproduction et les lois d'existence qui, seuls, le mettront à même d'établir un système naturel et rationnel de classification pouvant servir de base à une connaissance exacte de celui-ci.

Une classification fondée sur les caractères extérieurs ne saurait être acceptée que provisoirement et en attendant qu'on en propose une autre fondée sur la biologie, puisqu'on ne peut se rendre exactement compte des modifications morphologiques, si on ignore jusqu'où elles peuvent aller, soit pendant les différentes phases de développement, soit sous l'influence des agents extérieurs ou par des cas tératologiques.

Plusieurs classifications ont été proposées dans l'ordre des Diatomées, en vue d'éliminer quelques erreurs déjà anciennes, toutes reconnues comme étant plus ou moins dues à un système artificiel et qui n'eurent qu'une existence éphémère, bien que celles qu'on leur a substitué n'aient pas été définitivement adoptées, par la raison quelles n'offraient pas non plus de base solide.

Pour ne parler, seulement, que des principales classifications proposées pour les Diatomées, la plus ancienne, en suivant l'ordre de leur publication, est celle qui fut proposée par Frédéric Trangolt Kützing en 1844. L'illustre

micrographe anglais William Smith modifia quelque peu la classification de Kützing, en créant plusieurs genres se distinguant entre eux par la présence de frondes membraneuses ou muqueuses renfermant des Diatomées; ou par la réunion de quelques-unes en touffes, ou portées sur un pédicelle tantôt unique, tantôt rameux, bien que ces Diatomées fussent identiques à d'autres Diatomées libres de toute adhérence et bien qu'il fût prouvé que cette adhérence et ces pédoncules ne se distinguassent pas par aucun caractère des individus libres ; c'est pourquoi cette classification ne fut pas acceptée, malgré la compétence incontestable de l'auteur.

En 1852, le professeur américain Hamilton Lawrence Smith proposa un autre système de classification basé sur les caractères du frustule d'une Diatomée prise individuellement et à caractère bien typique, résidant dans la présence d'une ligne centrale saillante ou *raphé*, divisant la valve en deux parties; et de ce type il constitua la première section qu'il appela *Raphidées*.

Dans la seconde, il réunit les formes qui n'ont pas de véritable raphé longitudinal et saillant, mais seulement une ligne interrompant les côtes, les granulations ou les perles de ces Diatomées ; et il leur donna le nom de *Pseudoraphidées*. Enfin la troisième section fut composée de tous les genres, n'offrant à la surface de leur valve aucune apparence de raphé ou de ligne longitudinale quelconque, classe qu'il nomma *Cryptoraphidées*, mais qu'il eût été préférable d'appeler, selon moi, *Anaraphidées*, c'est-à-dire n'ayant ni raphé, ni division qui les caractérisât.

Cette classification, bien qu'artificielle, a pourtant le mérite incontestable d'être extrêmement simple, personne ne pouvant hésiter à reconnaître à quelle section devait appartenir une Diatomée quelle qu'elle fût, même en supposant qu'on la vît pour la première fois; ce qui est cause que cette dernière classification est la plus généralement adoptée, toutefois on ne doit la considérer que comme provisoire.

Un an environ avant que M. H. Smith eût présenté sa classification, le Dr Pfitzer, de Bonn, avait proposé un autre système dont le mérite est fondé sur la disposition qu'af-

fecte l'endochrome chez les différents genres typiques des Diatomées, classification qui se trouve basée sur une condition inhérente à la vie même de ces Diatomées et qui, dans la suite, fut complétée par le savant micrographe français Paul Petit.

Sans mettre en doute que la disposition de l'endochrome dans la cellule des Diatomées soit selon les lois qui régissent la vie de l'espèce à laquelle elle appartient et que cette disposition soit commune à tous les types spécifiques du même genre, il est pourtant à remarquer que cette disposition n'est pas toujours constante et uniforme chez les différents types, puisque une même espèce, à diverses époques de son existence, présente l'endochrome : tantôt sous l'aspect d'une ou deux masses informes ou lames, tantôt divisé en un nombre assez considérable de corpuscules ou granules parfaitement distincts. A mon point de vue, ces modifications diverses sont en rapport avec le mode de la reproduction; aussi, tous les systèmes de classification basés sur la disposition de l'endochrome ne me paraissent pas fondés, non pas que cette disposition ne soit particulière au type organique, mais parce qu'elle n'aide pas à la détermination et parce qu'on devrait pouvoir retirer de cette disposition des caractères plus définis. Par conséquent, les défenseurs de ce système auront-ils de la peine à faire accepter et à rendre pratique une classification uniquement basée sur la disposition de l'endochrome en une ou deux masses informes ou en une multitude de granules, puisque chez toute Diatomée placochromatique, c'est-à-dire ayant l'endochrome réuni en une ou deux lames plus ou moins régulières, celui-ci peut se présenter sous l'aspect coccochromatique, c'est-à-dire divisé en un certain nombre de petits granules, et cela, selon moi, parce qu'à ce moment des spores se forment chez la Diatomée, ou bien parce qu'elle vont se former.

Mon intention est de parler de la reproduction des Diatomées par spores, c'est-à-dire par la formation de spores, théorie que J. Deby, dans une rapide revue bibliographique sur les Diatomées, et au sujet d'un de mes travaux : *Observations biologiques sur le dépôt de Jackson's Paddock Oamaru, Nouvelle-Zélande*, dit justement être MA CHÈRE

THÉORIE, ce qui est prouvé par les différentes notes que j'ai publiées sur ce sujet.

Dès l'instant que je m'adonnai sérieusement à l'étude de Diatomées, je reconnus tout de suite l'importance qu'il y avait pour moi de me renseigner complètement sur tout ce qui avait trait à la reproduction de ces organismes ; je provoquai donc, à plusieurs reprises, la discussion sur ce sujet, invoquant le jugement des savants les plus versés dans la science et les priant de me dire si je me trompais. En dépit de cela, mes opinions ne furent malheureusement pas discutées et, par cela même, ni acceptées, ni rejetées comme étant contraires aux vérités scientifiques.

Tous ceux qui se sont occupés de la vie des Diatomées se contentent de répéter, simplement, ce qui a été dit primitivement sur cette étude, époque où l'efficacité des instruments de recherche et, spécialement, du microscope, était si inférieure à ceux que nous possédons aujourd'hui. Mais puisque J. Deby s'exprime au sujet de cette théorie en disant : « Nous ne voulons pas nier la possibilité d'une génération sporifère chez les Bacillariées », ces paroles m'encouragent à reprendre ce thème, d'autant plus volontiers que je le considère comme devant constituer un premier pas vers la connaissance d'un fait qui m'a paru être une vérité n'admettant pas le doute, bien que je sois habitué (peut-être un peu trop !) à réclamer un examen quand déjà elle est pour moi évidente.

Attiré par la merveilleuse découverte de Fox Talbot en Angleterre, de Niepce et de Daguerre en France, je me mis, dès l'hiver de 1841, à expérimenter les différents procédés de photographie, suivant les progrès ultérieurs et m'adonnant à la vulgarisation de cet art prodigieux au moyen duquel nous reproduisons la nature elle-même. Alors je choisis de préférence, comme plus intéressant et plus digne, l'application de la photographie aux choses qui pouvaient être utiles à la science.

Pendant ce temps, les perfectionnements de la partie optique et des procédés chimiques se succédaient sans cesse, à mesure que le nombre des divers emplois de la photographie augmentait. Cela me fit prendre la résolution d'appliquer la photographie à une série d'essais et, en réfié-

chissant à la fidélité inévitable obtenue par ce moyen, je désirai essayer de fixer par son concours la reproduction authentique de maintes particularités qui pourraient se découvrir chez un organisme quelconque au moyen du microscope. Je ne puis préciser exactement l'époque à laquelle remontent mes premières expériences photomicrographiques, mais, autant que je m'en souviens, je me mis à reproduire des microorganismes dès l'année 1862.

Les bons résultats obtenus dans mes tentatives, faites sur des organismes de tout ordre, m'engagèrent, au lieu d'errer entre mille sujets divers, à choisir de préférence la reproduction des Diatomées, avec lesquelles j'avais tous récemment fait connaissance.

Le choix que je fis de cette agréable occupation me porta bonheur, puisque, sans m'y attendre, j'eus l'honneur d'être nommé membre de l'Académie pontificale du *Nuovi Lincei* en 1867, et me trouvai ainsi dans l'obligation de faire connaître le résultat de mes essais.

Bien que ce fût la première fois que j'eusse l'honneur de parler dans une académie, je m'efforçai de faire ressortir les raisons spéciales qui m'avaient engagé à entreprendre l'étude complète des Diatomées, dont je donnai l'historique en insistant sur leur nature et sur leur utilité dans l'économie providentielle du règne végétal, tout en faisant remarquer leur extrême petitesse jointe à la richesse des détails et à l'élégance de leurs formes.

Lors de la seconde année que je siégeais à l'Académie, pendant la séance qui eut lieu le 19 avril 1868, je lus un mémoire : *Sur la multiplication et la reproduction des Diatomées*, dans lequel je passai en revue l'état de nos connaissances sur un ordre d'organismes si intéressants. J'y parlai de quelques expériences et de quelques observations que j'avais faites sur un certain nombre de cultures de Diatomées. Dans ces cultures, je reconnus le début de la vie chez les Diatomées, car j'eus l'occasion d'observer de nombreuses formes extrêmement petites, absolument identiques à d'autres beaucoup plus grandes, qui s'y trouvaient parfaitement développées et qu'on pouvait considérer comme étant des individus adultes de la même espèce, dont ils différaient non seulement par leur dimension, mais

aussi par la couleur vert bleuâtre de leur endochrome qui, chez les individus adultes, était d'une teinte olivâtre tirant sur l'ocre.

Les mêmes cultures m'offrirent l'occasion favorable d'observer des Diatomées renfermées dans une enveloppe, qui, dans la majorité des cas, sont immobiles, n'en ayant vu se mouvoir que deux, locomotion due à la présence de deux cils flagelliformes très fins et dont le mouvement s'opérait dans la direction des pôles.

De telles observations me parurent sanctionner la bonne direction que j'avais heureusement donnée à mes études, me préoccupant surtout et par dessus tout de m'instruire sur le mode de reproduction des Diatomées, au lieu de rechercher des louanges pour la découverte d'espèces nouvelles. Dans la poursuite de ces recherches qui s'imposaient à moi comme étant les principales en ce qui concerne l'étude des Diatomées, étude à laquelle je m'étais sérieusement adonné, j'eus la bonne fortune, l'année suivante, d'être témoin de la production de nombreuses formes embryonnaires provenant d'un *Podosphenia ;* et, dans ce cas, je pus voir aisément se produire, dans le champ du microscope et sous mes yeux, les mêmes phénomènes qu'avaient observés Rabenhorst chez un *Melosira*, et O'Meara chez un *Pleurosigma Spencerii*, qui furent enregistrées par la science sans explication et comme étant une anomalie étrange ; tandis que certains essayèrent de faire entendre que ces formes provenant de la cellule de la Diatomée n'étaient autres que des animalcules parasites de la valve siliceuse même. Je fis un compte rendu détaillé de ces observations à la cinquième session de l'Académie, qui se tint le 18 avril 1869, et j'expliquai succinctement comment la chose s'était passée sous mes yeux ; mais craignant d'oublier quelques phases du phénomène, ne pouvant en prendre un dessin graphique à cause d'un tremblement naturel de la main, j'avais suppléé à cela en reproduisant tout, sans délai, par le procédé dont j'ai fait mention.

Dans cette relation lue devant l'Académie, je démontrai la parfaite identité de mes observations avec celles des deux célèbres micrographes naturalistes, elles se complétaient réciproquement. Aussi l'occasion que j'eus de remarquer

qu'à l'issue de ce petit organisme de la cellule de la Diatomée, ils se tournaient sur leur axe, montrant alternativement un profil arqué ou linéaire, exclut dans tous les cas la possibilité de les considérer comme étant des animalcules parasites.

Convaincu, par ce que ces observations m'avaient fait comprendre que nous sommes encore bien loin de connaître le dernier mot sur le mode de reproduction des Diatomées, et conscient de l'imperfection de nos connaissances sur ce sujet si intéressant, je pris la résolution de profiter de toutes les occasions que j'aurais pour réunir des faits et des observations qui confirmassent ma manière de voir ou qui me prouvassent que j'étais dans l'erreur.

De fait, ma diligence et mon assiduité furent récompensées dans plus d'une circonstance, et toutes les fois qu'il me fut possible d'enregistrer quelques faits nouveaux je me fis un devoir de les communiquer à mes amis, mes correspondants, à l'Académie, ainsi qu'à tous ceux que l'étude des Diatomées intéressait en appelant leur jugement et en provoquant la discussion.

Je ne crois pas me tromper en disant qu'il n'y a pas moins de vingt-quatre ans que je suis persuadé que la reproduction *réelle* et *normale* des Diatomées se fait par *spores*, sous formes embryonnaires, ou par *germes*, et que la multiplication par division, outre qu'on ne peut la considérer comme une reproduction, n'est pas moins propre à toutes les Diatomées et n'est pas une règle générale, mais plutôt une exception.

J'ai constamment professé et publié cette opinion ; j'ai toujours stimulé et attiré la discussion sur elle, affirmant à tous, cela uniquement dans l'intérêt de la vérité, que loin de m'offusquer de la critique, je serais obligé à quiconque ne démontrerait que j'étais dans l'erreur.

Plusieurs fois, et inopinément, je fus récompensé par des distinctions honorifiques d'avoir consacré mon temps d'une façon désintéressée à la science ; je vis en outre mon nom mentionné comme m'occupant des choses de la science, mais, en dehors de cela, je ne pus obtenir, de qui que ce soit, que mes opinions relatives à la formation des spores chez les Diatomées, fussent prises en considération et examinées.

De ce fait, notre science est restée à l'état d'enfance, sans bases solides, et tout ce qui a été établi au moment où, pour la première fois, on a observé les Diatomées, est généralement resté comme un fait acquis.

En réfléchissant à cet état de choses et n'ayant pu arriver au but que, dans l'intérêt de la Science, je m'étais proposé, à cause du nombre restreint de ceux qui s'occupent de l'étude des Diatomées et de leur tendance à rechercher plus particulièrement des formes nouvelles à baptiser, je crois qu'on peut attribuer mon échec au peu d'attention apportée à tout ce qui se publie en Italie, soit à cause du manque de connaissance qu'ont, en général, les étrangers de notre belle langue, soit parce que nos travaux scientifiques sont peu répandus.

En ce qui me concerne particulièrement, la difficulté augmente, parce que ma thèse n'est pas uniquement établie sur l'observation fortuite d'un *Podosphenia*, observation concordant exactement avec celles de Rabenhorst sur le *Melosira varians* et de O'Meara sur le *Pleurosigma Spencerii ;* car ma manière de voir à l'égard de la reproduction des Diatomées venait recevoir une confirmation, d'une série d'observations faites en diverses circonstances sur différents genres d'algues siliceuses, observations qui m'ont continuellement fourni l'occasion de revenir sur ce sujet dans diverses notes, en indiquant, chaque fois en détail l'évolution et les circonstances qui l'accompagnent. En conséquence, ainsi que je l'ai déjà dit plus haut, une des circonstances défavorables, à mon but, d'obtenir de faire discuter mes opinions, résidait dans la difficulté de réunir mes travaux publiés en diverses circonstances. En revenant avec de nouvelles observations sur ce sujet et en réunissant ici tout ce que j'ai pu trouver à l'appui de ma thèse, j'ose espérer que quelqu'un voudra bien prendre la peine de l'examiner dans l'intérêt unique de la Vérité et de la Science.

J'en arrive donc à expliquer quand il me fut donné de faire des observations concernant les phénomènes de reproduction des Diatomées et en particulier sur la *sporulation*, c'est-à-dire sur la reproduction par germes, par spores et par formes embryonnaires.

La première fois que j'eus l'occasion d'en parler, ainsi que je l'ai fait connaître plus haut, c'est le 19 août 1868, alors que je présentais à l'Académie une note sur la *Multiplication et la reproduction des Diatomées*, dans laquelle je passai rapidement en revue tout ce qui avait été écrit à ce sujet par le célèbre micrographe anglais William Smith dans son *Synopsis of the Britich Diatomaceae*, ouvrage qui, s'il ne contient pas tout, donne ce qui a été publié de mieux jusqu'ici sur la question de la reproduction des Diatomées en dehors de ce qu'a écrit le Dr Carpenter dans son livre : *The Microscope and its Revelations*.

W. Smith, après avoir raisonné sur le mode de fissiparité ou temnogénèse, qui ne saurait être appelé reproduction, mais simplement considéré comme un mode de multiplication, et après avoir cité quelques observations faites par lui et par Thwaites, Griffith et Carter sur les cas des Diatomées conjuguées, ainsi que cela arrive chez les Desmidiées, indique, comme résultat de ce procédé, la formation d'un ou deux sporanges, ou d'un ou deux frustules sporangiaux dont il nous a laissé les dessins.

Dans la troisième édition de son ouvrage, § 187, page 298, il s'exprime ainsi :

« Il n'est pas certain que les Diatomées se multiplient par la division de leur endochrome en gonidies et par l'émission de ces dernières à l'état actif de zoospores ou de spores dormantes. Cependant quelques observations de Foke (*Physiologisch Studien*, Heft II, 1853) mises en comparaison avec d'autres protophytes, et étant donné qu'il est hors de doute que les frustules sporangiaux ne se multiplient pas par gonidies, semblent justifier l'affirmation que ce mode de reproduction existe dans ce groupe. »

M'appuyant sur ces autorités, je me suis rangé à cette opinion, et je l'ai en conséquence confirmée en rappelant les observations très intéressantes de Rabenhorst et de O'Meara dans lesquelles l'émission des gonidies est évidente. Pour mieux confirmer ce fait, j'ai rappelé les remarques de W. Smith au sujet des kystes renfermant de nombreux individus du *Cocconema cistula* et de Christophe Johnson sur un autre kyste contenant des frustules de *Synedra*

radians, en mentionnant également que j'avais trouvé de semblables kystes renfermant des individus appartenant au *Cocconeis placentula*, entourés de beaucoup d'autres semblables à ce type, mais de dimensions diverses, offrant les différentes phases de développement remarquées par les deux naturalistes anglais. Dans cette même note, je fis part d'une autre remarque que j'avais eu l'occasion de faire sur une culture de Diatomées d'eau douce. Dans cette culture se trouvaient mêlés de nombreux organismes ronds, verts, renfermant une substance granuleuse; ces derniers, de dimensions et d'aspects différents, m'ont paru passer graduellement à l'état de kystes hyalins, arrondis, renfermant quelques petites navicules bien définies, à endochrome d'un vert glauque et munies chacune de deux gouttelettes huileuses ainsi qu'on pouvait le constater par la forte réfraction de la lumière. De ces kystes hyalins et par pression exercée sur le couvre-objet, on pouvait voir sortir les petites navicules, qui, en se retournant sous l'action du courant liquide, présentaient une surface tantôt elliptique, tantôt rectangulaire; ce fut alors que, hors des nombreux kystes vides, j'en vis deux se mouvoir au moyen de deux cils flagelliformes.

Après de semblables résultats, on ne s'étonnera pas que j'aie continué mes investigations du côté qui m'a paru le plus noble et le plus intéressant de l'étude des Diatomées qui, du reste, m'avait été présenté comme tel par notre éminent naturaliste, M. le professeur G. Meneghini, à qui je suis redevable d'avoir porté toute mon attention vers cette étude. Aussi, eus-je, l'année suivante, la bonne fortune d'être témoin d'un cas absolument identique aux deux déjà enregistrés par la science, l'un sur le *Melosira varians* mentionné par Rabenhorst, l'autre sur un *Pleurosigma Spencerii* rapporté par le micrographe irlandais O' Meara dont il a déjà été fait mention. Je vis un *Podosphenia* émettre des formes organisées rondes que j'avais observé auparavant autour de la cellule même, ainsi que cela avait été vu par les deux observateurs que je viens de nommer, et le fait constaté que, dès les premiers moments de leur émission, ces formes organisées, entraînées par les courants, présentaient tantôt une surface arrondie, tantôt

rectangulaire, ne permet pas de les considérer comme étant des infusoires parasites de ces diatomées.

Bien que ces trois cas fussent absolument identiques et par conséquent se confirmassent mutuellement, de façon à en arriver à la conclusion que c'étaient bien là des cas de vraie reproduction, nos observations différaient cependant des précédentes sur deux points.

Le premier consistait dans le mouvement confus, sorte de fourmillement, remarqué antérieurement à tout autre phénomène dans la cellule de la Diatomée, et par lequel, de l'état de division, je dirai même d'émulsion, la substance huileuse se réunit en deux ou trois petites gouttes, avant la sortie des corpuscules arrondis, égaux et bien définis, c'est-à-dire des formes embryonnaires. Néanmoins, je suis porté à croire que tout cela, bien que parfaitement constaté, n'était pas qu'un phénomène normal de la reproduction, et je le considère plutôt comme étant dû à la pression exercée par le couvre-objet au fur et à mesure que l'eau retenue par capillarité entre la lame mince et la lame s'évaporait.

Mais, malgré la conviction que les observations et les expériences m'ont donné, à savoir que les Diatomées se reproduisent par germes ou spores, conviction même confirmée par d'autres observations du même genre faites par des personnes d'une valeur et d'une autorité reconnue; il est également incontestable qu'une immense quantité de Diatomées est dû au mode de multiplication par *fissiparité* ou *temnogénèse* dont nous avons de nombreux exemples parfaitement constatés. Mais un procédé pareil ne saurait être dénommé reproduction, pas plus qu'on ne peut considérer comme tel le procédé par lequel les végétaux se reproduisent par des oignons, des bulbes, des stolons ou des boutures, cette multiplication n'étant qu'une extension de la vie individuelle de la plante de laquelle ils dérivent. Alors, comme chez les Diatomées, le mode de multiplication par fissiparité est bien plus évident que celui de la reproduction et, par cela même, plus facile à observer, on a cru devoir se contenter de considérer toutes les Diatomées comme provenant d'une division cellulaire, c'est là une triste preuve de l'état d'enfance (qu'on me permette de le dire) de notre

étude ; m'étant dévoué à cette question d'une façon spéciale, je me suis proposé de profiter de toutes les occasions de rechercher le véritable mode de reproduction des Diatomées d'eau douce et marine.

Le littoral de l'Adriatique de l'Italie centrale et principalement la plage sablonneuse de Fano, où je suis né, ne sont pas favorables à cette étude, les Diatomées n'y trouvant pas de support stable. C'est pour cette raison que j'ai visité plusieurs fois les côtes de l'Istrie et de la Dalmatie, localités très favorables aux études d'histoire naturelle et de la vie marine.

Mon premier voyage eut lieu en 1869, me dirigeant vers Trieste, et m'étant arrêté quelque temps à Pizano, j'en parcourus les environs. Ce voyage me fournit l'occasion de faire plusieurs observations concernant la biologie des Diatomées, ainsi que je l'ai rapporté à l'Académie dans les séances du 27 août et du 25 mai 1873.

A Pizano, petite ville de l'Istrie, j'y trouvai à profusion la *Striatella unipunctata*, diatomée à valves elliptiques et à zone carrée ou rectangulaire, constituée comme chez le *Rhabdonema* par la superposition de plusieurs anneaux ou diaphragmes. Le nom spécifique *unipunctata* a été donné à ce type à cause de la singulière disposition de son endochrome qui, au lieu d'être divisé en un plus ou moins grand nombre de petites masses, ou en deux grandes masses disposées en plaques le long des valves, est au contraire réuni en une masse informe au centre de la cellule et se présente sous l'aspect d'une tache au milieu de la face frustulaire.

Un grand nombre d'individus appartenant à cette diatomée se trouvaient ainsi, mais, en même temps, on en voyait, aussi, beaucoup présentant un endochrome formé de corpuscules oblongs, fusiformes, disposés en groupes étoilés et dans certains cas, on distinguait un nombre égal de filaments, très minces, rayonnants, se prolongeant jusqu'au périmètre de la cellule.

Bien que, sur le moment, j'ai ressenti une certaine incertitude et que j'aie hésité à interpréter cette disposition et cette configuration de l'endochrome, j'étais immédiatement persuadé que ce phénomène avait des rapports

avec la reproduction de l'espèce. Mais maintenant, après des observations multiples sur un grand nombre de Diatomées, je suis convaincu que, quand on voit l'endochrome de ces algues se disposer en plusieurs parties égales, distinctes et régulières, on peut considérer comme certain que ce phénomène est le signe précurseur de la reproduction ou de la sporulation.

Il y a environ deux ans, causant de cela avec un jeune professeur à qui je faisais remarquer que le *Melosira varians*, vers la fin de l'hiver, avait son endochrome également divisé en masses arrondies bien définies et que je les considérais comme étant de nouvelles cellules parfaites destinées à reproduire la forme de la cellule mère, celui-ci me fit une objection juste à savoir que, pour reconnaître dans les formes rondes de véritables cellules, et détruire la supposition qu'elles ne fussent pas plutôt des granules de chlorophylle, on devait pouvoir constater dans ces cellules la présence des nucléoles. Très reconnaissant envers la personne qui m'avait fait cette remarque, je concentrai convenablement l'éclairage de mon microscope et j'eus la satisfaction de reconnaître distinctement et de faire voir à plusieurs témoins, ainsi qu'à la personne qui m'avait fait l'objection, la présence du nucléole dans chacun de ces corpuscules, de façon qu'on pût les considérer, avec toute la rigueur scientifique, comme étant autonomes et des êtres distincts de la cellule mère.

Dans le même mémoire lu à l'Académie en 1873, j'ai exposé les observations que j'avais faites l'année précédente en Dalmatie et surtout à Lesina, où je séjournai quelque temps dans le but de poursuivre mes recherches sur la vie des Diatomées marines.

Là aussi je fus favorisé par le sort qui fit passer sous mes yeux une série de transformations démontrant, de la façon la plus certaine, les évolutions progressives d'une diatomée en poursuivant toutes les phases de sa vie.

Ayant rencontré à cet endroit, et dans la même maison où je logeais, M. le professeur Grube de Breslau, qui y était venu pour étudier spécialement les Annélides marins, se faisant apporter par un pêcheur le produit brut de ses pêches à la drague, mon attention fut attirée par un frag-

ment de *Zostera oceanica* ayant à sa surface certaines protubérances translucides, de couleur olivâtre, que j'examinai au microscope. En ayant détaché une parcelle, je plaçai celle-ci sous l'appareil et je reconnus que sa masse était de nature gélatineuse, compacte, renfermant de nombreux kystes ovales de diverses dimensions. Les plus grands de ces kystes contenaient un couple de *Mastogloia* parfaits et adultes, très reconnaissables, tandis que tous les autres montraient au centre deux formes naviculoïdes égales, placées l'une à côté de l'autre, passant graduellement aux formes adultes parfaitement développées et reconnaissables à première vue. Dans le petit kyste se distinguent deux corpuscules verdâtres, oblongs qu'on pouvait prendre pour des Mastogloia embryonnaires, l'état de l'enveloppe étant tel qu'elle n'avait pu livrer passage au plus petit organisme étranger.

Considérant donc cet état de la masse gélatineuse renfermant uniquement de très nombreux kystes hyalins, ovales, de toute dimension présentant une série complète passant du plus grand au plus petit, et ayant chacun, placés d'une façon identique, deux organismes naviculoïdes reconnaissables pour des frustules de *Mastogloia*, on était entraîné à reconnaître l'évolution de la diatomée.

Sans que l'excessive petitesse empêchât de les caractériser génériquement, qui donc pourrait se refuser à reconnaître, dans l'observation précédente, la parfaite représentation des diverses phases de la vie de ce genre, et cela d'une façon aussi évidente que si on isolait l'une des plus petites formes de ces individus et qu'on en suivît le développement progressif?

Pendant que de nombreuses observations sur le mode de reproduction des Diatomées venaient confirmer ma première idée, que dans cet ordre d'organismes la vraie reproduction s'opère par germes, par spores ou par formes embryonnaires, l'illustre Pfitzer, de Bonn, publiait un ouvrage ayant pour titre : *Untersuchungen über Bau und Entwichelung der Bacillarien*, dont j'eus connaissance par une analyse qu'en donna le micrographe irlandais E. O'Meara, dans le *Quaterly Journal of microscopical Science*, vol. X, p. 240, 384; vol. XIII, p. 9; vol. XIV, p. 81. Ne connaissant pas

la langue allemande, je n'ai pu lire l'original, et, par conséquent, je n'ai pu profiter des idées émises dans ce remarquable travail qui est le meilleur paru sur la théorie et l'évolution des Diatomées.

Le Dr Pfitzer, combinant inconsciemment dans cet ouvrage tout ce qui avait été publié quelques mois auparavant, en 1869, par le Dr M'Donald dans son intéressant travail : *On the Structure of the Diatomaceous Frustule and its Genetie Cycle,* établit que, chez les Diatomées, la reproduction sexuée s'opère uniquement par fissiparité, autrement dit *temnogénèse,* tandis que, par l'emboîtement ou incapsulation de deux demi-cellules au moyen de leurs connectifs respectifs, dans la succession des divisions, les nouveaux frustules iront successivement en diminuant jusqu'à ce qu'ils arrivent aux dimensions les plus petites, admises par les lois d'existence de l'espèce. Ici l'auteur fait alors intervenir la conjugaison de deux individus de l'espèce, et de cette union bisexuelle résulte la formation de ce qu'on appelle une *auxospore*, donnant naissance à deux frustules sporangiaux d'une dimension double des autres et qui seraient destinés à créer une nouvelle série descendante de Diatomées.

Une semblable théorie est vraiment séduisante, et il n'est pas étonnant qu'elle ait été bien accueillie, car il faut reconnaître qu'elle est ingénieusement fondée sur des observations enregistrées par la science et résultant du fait de la diminution progressive des nouveaux frustules, résultant de l'emboîtement des deux valves du frustule. Malgré cela, il me semble que cette théorie n'était pas fondée sur des bases très solides, et que, sous plusieurs rapports, elle était sujette à des exceptions ; tout en reconnaissant que je m'avançais beaucoup, j'écrivis une note dans laquelle j'exposais les raisons qui m'empêchaient d'accepter cette ingénieuse théorie.

Dans cet intervalle, ayant été invité par le professeur Parlatore à prendre part au Congrès international de Botanique qui eut lieu à Florence, en mai 1874, je décidai de soumettre mes idées sur ce sujet au jugement autorisé de cet aéropage. M'étant fait inscrire parmi ceux qui se proposaient de faire quelques communications à ce Con-

grès, j'appris que le Dr Pfitzer était du nombre des invités, aussi m'empressai-je de faire sa connaissance et de le prévenir que, poussé uniquement par l'amour de la vérité, qui doit toujours guider ceux qui se dévouent aux choses de la Science, je m'étais décidé à présenter des objections contre sa théorie sur la reproduction des Diatomées afin de provoquer une démonstration de nature à me convaincre.

Sans m'arrêter, ici, à répéter ce que j'eus l'honneur d'exposer au Congrès, je me bornerai à faire remarquer que la théorie du Dr Pfitzer est principalement basée sur des points qui ne sont pas généralement constatés, qu'on ne peut pas admettre, ou qui, tout au moins, ne sont pas bien prouvés. En effet, la théorie de l'auxospore a été tirée des conditions d'emboîtement des deux valves de la Diatomée, ce qui est prouvé d'une façon évidente comme ayant lieu chez les Naviculées et quelques autres genres; mais peut-on affirmer et démontrer que l'emboîtement ou l'incapsulation ait lieu chez tous les autres genres indistinctement? Quant à moi, je n'ai jamais rencontré le plus petit symptôme de cet emboîtement chez aucun des *Melosira* qu'on rencontre continuellement et parmi lesquels les espèces à profil linéaire permettraient aisément de distinguer les superpositions des connectifs des valves, ce qui serait tout au moins indiqué par deux lignes équidistantes des deux valves, ainsi qu'on le voit chez les Naviculées. Je dois aussi mentionner que j'eus l'occasion d'observer, une fois, une très longue chaîne de *Fragilaria* dont je comptai les frustules au nombre de 72, sans que dans ce nombre j'aie pu reconnaître la plus petite variation dans la longueur de leur axe longitudinal. Or, comment comprendre cela dans le mode de division fissipare, sans admettre ou supposer qu'après la séparation de la cellule primitive en deux nouvelles cellules, et ainsi de suite, n'ait lieu une dilatation ou distension périphérique dans le jeune connectif et dans les valves?

Cette dilatation des parois siliceuses des Diatomées est déclarée inadmissible par le Dr Pfitzer, et il a été ainsi conduit à établir la théorie de l'auxospore basée sur la formation de frustules sporangiaux de dimensions doubles des

dernières Diatomées de la série, lesquels donneraient naissance à une nouvelle succession d'individus.

Je sais que l'opinion du naturaliste de Bonn, sur la non-extensibilité de la cellule, est partagée par un autre micrographe distingué, mais, malgré cela, je ne puis admettre cette manière de voir, et je répéterai avec Aristote : *Amicus Plato, sed magis amica veritas.*

En effet, je ne comprends pas qu'on puisse le moins du monde hésiter à reconnaître que les parois siliceuses des Diatomées ne soient pas sujettes à se dilater et à augmenter, si l'on prend en considération les arguments que j'ai exposés dans la communication que je fis au Congrès de Florence. Parmi ceux-ci, je me bornerai simplement à rappeler celui qui a trait à l'*Orthosira Dickieii.* Chez cette espèce, on rencontre souvent des frustules sporangiaux qui ont été parfaitement reproduits, planche LII, *fig.* 335, du Synopsis des Diatomées d'Angleterre de William Smith. Chez cet *Orthosira,* les frustules disposés en série ou chaîne sont tout à fait cylindriques et d'un diamètre égal, à l'exception des frustules sporangiaux qui sont renflés au centre comme par un effort venant de la masse protoplasmique interne, tandis que, dans le sens de la longueur, l'augmentation de la cavité cellulaire paraît plus considérable; évidemment on ne peut admettre en aucune façon que cette augmentation ait eu lieu dès le premier moment où s'est formé le frustule sporangial provenant de l'auxospore, suivant la théorie du Dr Pfitzer. L'augmentation du frustule indiqué pressant le fond du frustule suivant a obligé celui-ci à se replier sur lui-même et à exercer sur le fond du frustule suivant la même pression qu'il a subie lui-même, et ainsi de suite de proche en proche indiquant une action progressive évidente de la dilatation des parois, partant du frustule sporangial et s'exerçant sur plusieurs cellules consécutives dans les deux directions opposées.

Non seulement la fidélité avec laquelle ce mode de reproduction a été dessiné n'est contestée par personne, l'exactitude des figures du Synopsis de Smith étant généralement reconnue; mais elle a été corroborée par moi, par la comparaison que j'en ai faite avec une préparation de l'*Orthosira Dickieii,* ainsi que le montre le n° 3 de la pre-

mière centurie des *Diatomacearum species typicæ* du Dr Euleinstein.

Donc cette propriété d'augmentation et de distension de la silice chez les Diatomées étant démontrée (silice se rencontrant à l'état organique et non simplement à l'état minéral), il n'est plus nécessaire de faire intervenir le mode de reproduction par *auxospore* pour pourvoir, au moyen de pustules sporangiaux, à l'excessif rapetissement des frustules, lesquels, s'ils étaient privés de la faculté de croître, ce dont jouissent généralement tous les organismes vivants, démontrerait la dégénèrescence de l'espèce.

Il est bon de remarquer, également, que toute spécieuse que paraisse cette théorie du rapetissement des frustules, admettant en même temps la non-extensibilité de la silice, il faudrait prouver que les frustules sporangiaux sont réellement les prototypes de l'espèce et les originaires de la nouvelle génération.

Tant que cette preuve n'aura pas été faite, les frustules doivent être considérés comme des êtres monstrueux, imparfaits et privés de la faculté de procréer.

Dans la nature, ces frustules seraient uniquement destinés à contenir un certain nombre de germes qui s'y développeraient jusqu'au moment où, sortant de cet asile, ils pourraient pourvoir à leur propre existence et à la diffusion de l'espèce, à laquelle ils contribuent d'une façon indirecte et subalterne à faire souche. Bien que cela puisse paraître étrange à premiere vue, à savoir qu'une forme originale ne soit pas douée de la faculté de se reproduire, cela n'est cependant pas une chose nouvelle chez les Diatomées, Le type *Goniothecium* qu'on a cru tout d'abord constituer un genre, rencontré plusieurs fois dans les frustules de *Chœtoceros*, a été rayé de la liste des genres et reconnu comme étant un frustule sporangial appartenant au type générique *Chœtoceros*.

On peut en dire autant et pour la même raison du du *Dicladia capreolus*, tandis que, parmi les Diatomées rapportées de l'expédition anglaise du Challenger, j'ai vu et figuré (pl. XIX, *fig*. 7 et 8), une colonie de *Chœtoceros* dont les frustules contenaient également le *Dicladia* que je reconnus pour une forme sporangiale, qualification qui, par

analogie, pouvait s'étendre, comme je l'ai dit, à la forme *Syndendrium*, déjà reconnue comme pouvant à peine être distinguée du *Dicladia*.

Ce qui a conduit à établir la théorie de l'auxospore, c'est d'avoir considéré comme le procédé le plus commun, sinon exclusif de reproduction des Diatomées, la temnogénèse ou fissiparité; de plus, elle a été suggérée par le besoin de pourvoir à la non-extensibilité supposée de la silice des frustules chez les Diatomées.

Ma réponse à cela a été : que l'autofission, ou division cellulaire ou temnogénèse ne saurait être appelée *reproduction*, mais uniquement multiplication, attendu que la reproduction entraîne l'idée d'une semence ou d'un germe qui se développe et croît jusqu'à reproduire sa propre espèce; tandis que la multiplication au point de vue biologique n'est autre que l'extension ou l'émanation de la vie individuelle, de la même façon que cela a lieu chez une plante qui se multiplie par bulbes, marcottes, tubercules, stolons, etc. ; de plus, à mon avis, le procédé de division cellulaire est plutôt l'exception que la règle.

Considérant que, dans le cas de fissiparité, les deux nouvelles valves, se formant au milieu de la cellule primitive, doivent se stéréotyper sur les valves mêmes situées à chaque extrémité, j'en ai déduit que la division cellulaire ne peut avoir lieu que lorsque le frustule qui se subdivise est formé de deux valves parfaitement semblables et symétriques sous tous les rapports. C'est pourquoi j'ai osé dire que la division cellulaire chez les Diatomées ne peut se produire chez les genres où les deux valves ne sont pas absolument identiques, comme, par exemple, chez les Cocconées et les Achnantes ; pas plus que chez les genres qui, tout en ayant des valves semblables et symétriques, celles-ci sont accomplies de façon que leurs parties homologues alternent, ainsi qu'on le remarque chez les *Asteromphalus*, les *Asterolampra* et d'autres genres. Enfin cette division cellulaire ne saurait exister non plus chez les types dont l'axe des valves s'infléchit comme chez les *Campylodiscus*. Je ne sais si je suis parti d'un principe solide et bien fondé en établissant, *a priori*, l'impossibilité de la division cellulaire dans les trois catégories de Dia-

motées sus-indiquées ; mais il est de fait que sur tous les cas enregistrés de multiplication par fissiparité qui sont arrivés à ma connaissance jusqu'à ce jour, il n'en est pas un qui fasse exception aux vues que je viens d'avancer.

Qu'il me soit permis d'ajouter un nouvel argument, qui s'est présenté à mon esprit après la rédaction de ce mémoire, et cela à propos de la théorie de Pfitzer, qui fait procéder la formation des frustules sporangiaux de la conjugaison provenant de l'acte copulatif. Tout d'abord, on y fait intervenir l'état d'accouplement au moment où les frustules ont subi une telle diminution par le procédé de division cellulaire, qu'elle ne permet aucune division ultérieure sans que cela soit incompatible avec l'idiosyncrasie de l'espèce ; mais est-il bien vrai que la diminution des frustules ait toujours lieu par le procédé successif de la multiplication ? Peut-on, par exemple, le démontrer chez les Mélosirées, les Orthosirées, les Scheletonemées ?

Je n'ai jamais observé chez ces genres une semblable dégradation, et si quelquefois il y a diminution, elle se produit subitement, d'une manière brusque, et se continue de façon que, par la suite, le diamètre des frustules reste égal. On peut en dire autant de beaucoup d'autres genres, mais je crois que le cas que j'ai cité d'un filament de *Fragilaria* possédant 72 frustules ne présentant pas la moindre diminution, sera suffisant.

Mais si l'on admet que l'auxospore soit produit par des frustules sporangiaux plus grands, initiateurs et restaurateurs d'une nouvelle descendance et d'une nouvelle génération, comment se fait-il que, chez le *Melosira varians*, on trouve quelquefois un frustule sporangial entre deux frustules ordinaires, au lieu de le trouver aux extrémités de la série en chaîne ? Et comment expliquera-t-on la formation de la forme cylindrique émanant directement du frustule sporangial qui a une forme globulaire.

J'ai eu l'honneur de signaler tout cela au Congrès de Florence, mais, bien que j'eusse la certitude d'être dans le vrai, appuyé que j'étais par les arguments qui précèdent et l'inéluctable logique des faits, j'ai, en méditant continuellement sur ce sujet, réuni de nouvelles preuves corroborant mon opinion et je n'ai pas manqué de les faire

connaître afin de provoquer la discussion sur cette opinion ou l'assentiment de ceux qu'elle intéressait.

C'est ainsi que, dans la quatrième séance de l'*Académie pontificale dei Nuovi Lincei*, tenue le 19 mars 1867, j'ai lu une petite notice ayant pour titre : *Nuovi argomenti a provare che le Diatomee riproduconsi per mezzo di germi.*

J'ai voulu, dans ce travail, confirmer ma thèse par un argument tiré du témoignage très autorisé d'un illustre biologiste, J. Schumann, enlevé trop tôt à la science et qui, dans son bel ouvrage, *Die Diatomaceen der hohen Jatra*, représente à la planche I, *fig.* 15, un *Nitzschia media* qui, ainsi qu'on le voit en C, porte encastrées dans les deux connectifs du frustule, s'emboîtant et constituant la zone connective, deux petites navicules, qui ont obligé une des valves, ainsi que son connectif, à se développer irrégulièrement et à entamer l'obstacle qui se développait ainsi simultanément. L'authenticité de cette figure est garantie par la valeur scientifique, bien connue, de l'auteur qui l'a copiée d'après nature. Cependant je ne suis pas de son avis lorsqu'il considère ce fruit comme un cas d'hétérogénie. Je ne conçois pas comment J. Schumann n'a pas reconnu, au contraire, dans cette irrégularité, un cas fortuit d'introduction de deux germes étrangers entre les deux connectifs du *Nitzschia*, lequel, ne pouvant se débarrasser de ces hôtes gênants par leur développement, a dû les subir et contourner l'obstacle. Son interprétation est d'autant plus surprenante et étrange qu'en parlant de cette anomalie singulière, il dit expressément (page 59) avoir souvent remarqué des frustules vivants contenant des noyaux avec des corps granuleux produisant de nouveaux individus ; il cite un exemple de *Nitzschia sigmoïdea*. C'est pour cela que j'ai cru devoir reconnaître, dans l'exemple sus-indiqué, un cas d'inclusion fortuite de deux germes navicules.

Dans le même travail, j'ai encore présenté un autre argument plus direct et qui m'a été suggéré par une récolte absolument pure d'une forme naviculaire que j'ai trouvée dans une fontaine, à l'endroit qu'on appelle : *Campi di Annibale*, près de la *Rocca di Papa*, forme que je reconnus être le *Pinnularia stauroneiformis*, mais qui variait telle-

ment dans sa striation de la forme typique, que je la désignai sous le nom de *Pinnularia Stauroneiformis latialis*, var.

Les frustules de cette récolte et de cette espèce étaient très nombreux et de toutes dimensions, différant en cela notablement entre eux, bien qu'on pût reconnaître d'une façon certaine qu'ils appartenaient tous à la même famille et à la même espèce. On aurait pu supposer que ces frustules étaient dus, en grande partie, au mode de division cellulaire, tenant compte de l'uniformité des profils et de la diversité des dimensions, ainsi que cela a lieu chez les Diatomées qui diminuent par divisions successives, en admettant que le nouveau frustule ne puisse ni augmenter, ni se distendre. Mais il me semble que, quand on obtient par autofission une longue génération de frustules, depuis les dimensions du frustule sporangial jusqu'au plus petit qui puisse se produire, selon les lois de l'espèce, tout cela, d'après le dire de Pfitzer, la striation des plus jeunes frustules, autrement des plus petits, devrait être notablement plus fine, de sorte que le nombre total des stries, sinon la dimension, devrait être identique. Cependant ce n'est pas ce qui se voyait dans la récolte en question, car ayant composé la striation des plus grands à celle des plus petits frustules, au moyen de la projection et d'un grossissement identique, obtenus par la photomicrographie, j'y ai trouvé chez tous un même nombre de stries dans un espace donné.

Pendant la deuxième session de la trentième année de l'Académie, le 24 janvier 1877, je revins de nouveau sur ce sujet dans un opuscule ayant pour titre : *Osservazioni e note ad elucidazione dello sviluppo delle Diatomee*. Dans cet exposé, après avoir longuement raisonné sur le sujet, et excité par les observations faites par le membre correspondant, le professeur G. Gagliardi, de l'Institut de la Charité, je me basai, pour confirmer mes opinions, sur l'extraordinaire et excessive reproduction du *Cymbella pisciculus*, remarqué dans l'espace de quelques heures.

Cette diatomée provenait de deux petites masses arrondies, mucilagineuses et hyalines, trouvées dans une fontaine près de l'église San-Pietro, à Montorio, et dont la très légère nuance foncée m'avait fait soupçonner des

Diatomées. Je les récoltai de suite et les portai chez moi pour les examiner. L'examen microscopique confirma ce que j'avais pensé, et je vis un grand nombre de *Cymbella* très immergés dans la masse gélatineuse.

Ayant jugé la chose digne d'une observation ultérieure, je plaçai les deux petites masses dans un vase de cristal avec de l'eau. Le lendemain, je fus surpris de trouver la surface de l'eau du vase couverte d'écume ainsi qne la paroi tapissée d'une couche de couleur ocracée. Les deux masses présentaient alors un aspect absolument opaque de la même couleur. Un si grand changement, produit en si peu de temps, était une preuve de la multiplication incalculable des Diatomées qui y étaient contenues, et cette reproduction dans l'espace de douze heures semble démontrer qu'elle avait eu lieu par le mode de la blastogénèse, car celui par fissiparité ou temnogénèse, n'eût pu, en si peu de temps, produire une aussi grande multiplication.

Le 17 mai de la même année, j'eus l'honneur de présenter à l'Académie un résumé de ce que j'avais écrit sur les Diatomées; et imitant en cela le voyageur qui, fatigué d'un long voyage, prend courage en considérant le long trajet parcouru, je rappelai dans ce travail, d'une façon spéciale, ce que j'avais observé et publié sur le mode de reproduction et sur la sporulation des Diatomées.

Si, dans ce compte rendu, j'ai tenu à résumer les divers résultats obtenus laborieusement par l'étude que j'ai faite d'un sujet nouveau et conséquemment peu connu, c'est parce que je me suis vu forcé de parcourir sans guide cette voie, et sans maître qui m'en facilitât l'accès. Je me suis donc attaché de préférence à résumer les nombreuses observations recueillies sur la reproduction des Diatomées au moyen de germes ou de spores, ainsi que les arguments qui confirment cette théorie. Mais, avec ce que j'ai signalé jusqu'ici, il me semble avoir donné assez de preuves, déduites des observations et des expériences faites par moi, et avoir présenté assez d'arguments en confirmation de ma manière de voir sur la *blastogénèse*, comme étant le véritable mode de reproduction des Diatomées qui ne saurait être confondu avec la temnogénèse ou la division

cellulaire qui n'est pas une reproduction, mais une multiplication propre à certains genres, et qui est l'exception et non la règle. Or, si un excès d'amour-propre ne n'aveugle pas, je pense mériter l'honneur d'être considéré comme étant un ardent défenseur de cette doctrine.

Si les illustres naturalistes Rabenhorst et O'Meara, le premier dans ses fameuses observations sur le *Melosira varians* et le second sur le *Pleurosigma Spencerii*, ont pris pour des spores ou des germes, les corpuscules qu'ils ont vu s'échapper de ces deux Diatomées, j'ignore qu'ils aient ultérieurement confirmé leur manière de voir et insisté sur l'interprétation donnée au seul fait observé par eux. Tandis que, en ce qui me concerne, un an avant d'avoir assisté accidentellement à l'émission de spores ou germes chez un *Podosphenia*, je déduisais par d'autres observations faites sur une culture, que les Diatomées se reproduisaient par germes. Je me suis, dans la suite, raffermi dans cette opinion par des observations multiples qui la confirment et que j'ai publiées en diverses circonstances, provoquant plusieurs fois la discussion et appelant, dans l'intérêt de la science, le jugement sur ma manière de voir.

Pendant plusieurs années, je n'eus pas de faits à ajouter aux diverses notes publiées sur la reproduction des Diatomées, d'autant plus que, pendant ce temps, j'étais absorbé par l'étude des nombreux matériaux rapportés par l'expédition anglaise du Challenger, expédition qui a duré plus de trois ans et dont j'ai eu l'honneur inopiné de présenter un des rapports illustrés.

Ce ne fut que le 17 mai 1885 que je rompis le silence et qu'à la sixième séance de la trente-huitième année de l'Académie je communiquai une note sur une observation faite sur une Diatomée fossile. J'avais entrepris l'étude d'un dépôt marin tertiaire, qui m'avait été indiqué par le professeur Dante Pantanelli comme appartenant à l'étage Langhien. Ce dépôt, qui se trouve dans les montagnes du Modenese et du Reggiano, diffère entièrement des autres dépôts marins italiens connus jusqu'à ce jour et qui sont d'une formation beaucoup plus ancienne.

Dans l'une des nombreuses préparations que j'avais faites avec ce dépôt, j'ai trouvé un *Coscinodiscus punctu-*

latus qui, indépendamment de ses ponctuations brillantes, présentait dans son périmètre des empreintes amoindries auxquelles il m'était difficile, à première vue, de donner une interprétation plausible. Le frustule était en partie corrodé; mais malgré cela, je voulus l'examiner très attentivement et j'employais mes meilleurs objectifs, entre autres un excellent objectif à immersion homogène de Zeiss. Je pus ainsi m'assurer que dans cet échantillon les deux valves existaient, du moins partiellement. En employant un fort agrandissement de façon à mieux séparer les parties constituantes et à distinguer plus facilement les deux valves, je pus me rendre compte de ce que pouvaient être ces empreintes rondes. En réfléchissant à cette singularité, il ne m'a pas été possible d'admettre autre chose, sinon que ces empreintes avaient été produites par des formes embryonnaires, emprisonnées dans le sein de la cellule mère et surprise en cet endroit par la cessation de la vie. Cette occasion ne fut pas la seule où il m'ait été donné de voir une pareille singularité, car en examinant le même dépôt j'y observai d'autres cas semblables et toujours chez la même forme sphérique de Coscinodiscus.

Mais d'autres surprises, encore bien plus grandes, m'étaient réservées pendant le cours de mes observations sur les Diatomées fossiles, qui, tout en confirmant mes opinions sur la blastogénèse propre aux Diatomées, me mirent inopinément en présence d'une particularité sur les formes embryonnaires qui modifia en quelque sorte ma manière de voir.

On a découvert, il y a quelques années, en Nouvelle-Zélande, un dépôt diatomifère qui, à bon droit, peut être considéré comme une source inépuisable de nouveaux types de Diatomées. Oamaru est le nom de l'endroit où a été faite cette découverte; mais on désigne les différentes parties de cette couche géologique par les noms des localités avoisinantes jusqu'où elle s'étend. Une des parties porte le nom de *Jackson's Paddock* et m'a fourni le sujet d'une notice que j'eus l'honneur de lire le 23 février devant l'Académie, et dans laquelle je présentai quelques observations biologiques, sans m'occuper de décrire les formes que l'on y trouve.

On rencontre assez fréquemment dans ce dépôt des fragments d'une forme canaliculaire contenant des corps organiques, siliceux, ainsi que le prouve leur résistance à l'action réitérée de l'acide sulfurique bouillant et du bichromate de potasse, employés pour détruire les matières carbonisées présentes.

Je les pris d'abord pour des fragments d'appendices d'un nouveau *Chœtoceros* ; mais c'est sans hésitation que je les considère maintenant comme devant appartenir à un *Pyxilla*, car s'ils appartenaient aux appendices d'un *Chœtoceros*, il faudrait admettre l'étrange supposition d'une espèce gigantesque dans ce genre.

Ce qui attira mon attention sur ces fragments fut de voir qu'ils renfermaient fréquemment de nombreuses formes organisées, discoïdales, de diamètres différents, et, ce qui me frappa le plus, fut d'en voir quelques-unes granulées d'une façon évidente. Ayant fait ces observations avec un excellent objectif apochromatique à immersion homogène, et après m'en être rapporté à l'avis de quelques-uns de mes amis que j'avais voulu prendre comme témoins de ce fait, il me semble que personne ne me refusera de reconnaître en elles des formes embryonnaires d'un Coscinodiscus. J'ai communiqué cette observation à un de mes correspondants anglais, homme très érudit et très versé dans les observations microscopiques ; il m'a répondu que les particularités du dépôt indiqué avaient été également remarquées par les micrographes anglais. Dans ces conditions, je me crois donc autorisé à faire les déductions suivantes :

1° Que les Diatomées ont des parois siliceuses dès les premiers moments de leur existence, fait qui contredit ce que je croyais à une autre époque, quand j'affirmais qu'une Diatomée pouvait, à certaine période de son existence, être privée de silice ;

2° Qu'il en résulte d'une manière évidente que la Diatomée, ainsi qu'il en est, généralement, de tous les organismes, naît petite, grandit et se développe ensuite jusqu'à complète croissance.

Ce qu'il y a de difficile à expliquer dans l'observation mentionnée plus haut, c'est de savoir comment il se trouve

un si grand nombre de formes discoïdales dans une forme canaliculaire que je considère comme étant un *Pyxilla*. Ce fait n'est pas isolé, car il n'est pas rare de trouver dans le même dépôt d'autres fragments semblables de forme canaliculaire renfermant de petits organismes discoïdaux. Je ne saurais donner d'autres raisons sur cela que la suivante : Il est parfaitement reconnu et établi que certains organismes siliceux, considérés comme des formes génériques autonomes, dans la classification des Diatomées, doivent être envisagés comme étant des organismes destinés à remplir un rôle passager, c'est-à-dire à favoriser la reproduction des formes normales, et, par conséquent, ils doivent être regardés comme des formes monstrueuses, n'ayant pas, à cause de cela, reçu le don de reproduire. Par conséquent, puisque les *Gonothecium*, les *Dicladia* et, probablement, par analogie, les *Syndendrium* ont été justement rayés de la liste des genres, j'estime qu'on doit également supprimer le genre *Pyxilla*, qui n'est autre qu'une forme sporangiale.

La preuve que ma manière de voir, en croyant que ces fragments de formes canaliculées, renfermant des formes organisées discoïdales, appartiennent au genre *Pyxilla* est fondée, c'est le fait d'avoir trouvé moi-même, dans le même dépôt, un *Pyxilla* dont l'extrémité était surmontée d'un appendice arborescent contenant également quelques petites formes discoïdales et que j'ai reproduites par la photomicrographie.

Lorsque, par suite des observations précédentes, j'eus acquis la conviction que les Diatomées étaient pourvues, même à l'état embryonnaire, d'une enveloppe plus ou moins silicifiée, la raison de certaines agglomérations de très petites formes rondes que j'avais eu l'occasion de remarquer dans des préparations de dépôts traités de façon qu'il ne restât rien qui ne fût siliceux, se présenta à mon esprit.

Je crois que ceux qui ont l'habitude de ces examens de préparation des Diatomées fossiles, surtout si elles ont été faites par la même personne, pourront se rappeler d'y avoir vu de semblables agglomérations dont ils n'ont pu comprendre l'origine. Je ne saurais douter, à présent, que ces très petites formes rondes ne soient la dépouille de Diato-

mées à l'état primitif et embryonnaire qui se trouvaient contenus dans un sporange, dont le sac membraneux a été détruit sans laisser de traces. Si je n'ai pas parlé plus tôt de ces observations, faites à plusieurs reprises, c'est que j'ai dû m'assurer, tout d'abord, que la silice existait dans la carapace de la cellule des Diatomées dès les premiers moments de son existence, bien qu'en quantité si minime qu'elle échappe à l'analyse la plus minutieuse. Il est également certain que la silice existe de même dans les formes embryonnaires, ainsi que cela est prouvé par les observations qui viennent d'être rapportées.

Après tout ce que je viens de dire et par les arguments multiples que j'en ai déduits, il me semble démontré d'une façon évidente que, dans l'ordre des Diatomées, la reproduction à lieu principalement par germes ou par formes embryonnaires. Je reconnais qu'on peut quelquefois être induit en erreur par la présence d'ovules d'insectes, d'infusoires ayant pénétré dans la cellule de la diatomée, adhérents à sa surface et se mouvant autour d'elle. Je sais qu'on a précisément considéré comme étant des infusoires, ou des organismes inférieurs de ce genre ce que Rabenhorst, O'Meara, et moi avons vu et considéré comme une émission réelle de spores ou de formes embryonnaires, destinées à reproduire la forme de la cellule mère. Cette fausse manière de voir, selon moi, à été préventivement exclue par l'observation des corpuscules que j'ai vu sortir, un à un, de la cellule mère, mobiles au premier moment comme le seraient des Monades et qui montrait alternativement une surface ronde ou un profil linéaire, ce qui n'a pas lieu pour les infusoires et encore moins pour les spores d'algues et des Chlorophycées. Mais ce qui refute absolument cette interprétation, c'est que j'ai pu me convaincre, malgré l'opinion contraire que je m'étais faite, tout d'abord, que les Diatomées à l'état embryonnaire, ont déjà des parois silicifiées, fait qui m'a été révélé par diverses observations sur des Diatomées fossiles surprises par la mort à l'état de gestation. En effet, il m'est arrivé plusieurs fois de remarquer dans le dépôt du *Monte Gibbio* et celui de *Modena*, des frustules de *Coscinodiscus punctulatus* portant des empreintes arrondies produites par des formes

embryonnaires qui étaient restées enfermées dans la cellule mère. Il en est de même dans le gisement diatomifère de *Jackson's Paddock*, *Oamaru* (*Nouvelle-Zélande*), qui contient des fragments de Diatomées de formes canaliculaires qu'on rencontre souvent renfermant de petites formes discoïdales qui, étant de nature siliceuse, ont résisté à l'action de l'acide sulfurique bouillant et présentent une granulation évidente.

J'ai publié ces observations au fur et à mesure qu'elles étaient faites, je les ai accompagnées de réflexions qui me paraissent utiles, j'en ai tiré des déductions analogues et j'aurais cru manquer à mon devoir en ne publiant pas les résultats obtenus sur un sujet de si grande importance. Je n'ai pas failli à cette obligation, déclarant en même temps que je soumettrais mes opinions aux hommes de science, assurant d'avance de ma reconnaissance celui qui voudrait bien me démontrer que j'étais dans l'erreur et qui m'indiquerait le côté faible de ma théorie. Ayant eu la bonne fortune de faire la connaissance d'un illustre et très notable botaniste allemand, j'eus avec lui une longue discussion au sujet de ma thèse, sans pouvoir l'amener à se prononcer à son sujet, ne se contentant pas que le fait fût démontré par une conclusion logique, tirée d'une observation positive ainsi que de l'expérience, mais exigeant la preuve, en demandant à voir une spore isolée dont on aurait enregistré les évolutions successives jusqu'au moment où elle arrive à l'état adulte et parfait.

Ceux qui connaissent combien sont petites ces spores, comprendront l'impossibilité de fournir la preuve demandée par une expérience de ce genre. Je n'ai pas eu plus de succès avec d'autres personnes n'ayant jamais répondu à mon invitation d'entrer en discussion suivie sur ce sujet, dans l'intérêt de la Science, afin de faire la lumière sur ce point si important :

On comprendra combien j'ai été contrarié par ce mutisme par lequel on a répondu à mon invitation, et du préjudice qui en est résulté pour la Science, eu égard à ce que quiconque vient à parler des Diatomées en donne des notions diffuses et élémentaires, ne faisant que répéter ce qui, au début de cette étude et avec les moyens imparfaits

des recherches d'alors, a été affirmé sur les modes de reproduction.

J'ai dû attribuer, comme je l'ai déjà dit, ce résultat, au peu de publicité qu'a eu, jusqu'à présent, tout ce qui a été publié en Italie sur les questions scientifiques, à l'ignorance de notre belle langue, ainsi qu'à la difficulté de se procurer les notes et les articles divers que j'ai publiés sur ce sujet dans les *Transactions dell'Academia dei Nuovi Lincei* et dans différents journaux scientifiques. C'est pourquoi j'ai jugé à propos de faire en sorte que quelqu'un consentît à examiner à fond la question, et ouvrît ensuite une discussion sérieuse sur les opinions que j'ai émises, lorsqu'il en aura eu entièrement connaissance, trouvant réunis et condensés dans un seul opuscule tous les arguments que j'ai présentés ainsi que les observations que j'ai faites pour établir et confirmer la théorie de la sporulation des Diatomées et leur blastogénèse.

Ce qui me fait surtout insister pour que cette théorie soit enfin admise à un examen sérieux est certainement l'intérêt très vif que je professe pour cette étude, que j'ai cultivée d'une façon spéciale pendant plus de trente ans et que je vois maintenant si peu avancée. Je dois aussi avouer que mon amour-propre n'y est pas absolument étranger, car, après toutes mes observations et tous les arguments que j'ai présentés en confirmation de mes opinions sur la sporulation des Diatomées, j'ai été frappé en lisant ce qu'un ingénieur belge, M. Julien Deby, diatomiste bien connu, a dit dans une brève revue critique sur la bibliographie des Diatomées à propos d'une de mes publications concernant certaines particularités observées dans le dépôt de *Jackson's Paddock*, *Oamaru* (*Nouvelle-Zélande*) et ayant trait à la reproduction. Par la tournure que cet auteur a donné à sa critique j'ai pu apprécier que, s'il me reconnaissait comme un disciple de la théorie de la sporulation, comme il avait connaissance des nombreuses observations faites par moi à ce sujet, ainsi que des démonstrations que j'ai publiées en diverses occasions pour confirmer mon opinion, il aurait dû reconnaître en moi, non seulement le mérite d'avoir fait une observation exactement semblable à celle de Rabenhorst sur le *Melosira varians* et O'Meara sur le *Pleurosigma*

Spencerii, mais m'attribuer aussi celui d'avoir, par des observations répétées et par des écrits nombreux, formulé et professé une théorie que les deux naturalistes que je viens de nommer n'ont fait, que je sache, qu'indiquer. Mais si je crois avoir le droit d'être reconnu comme le défenseur, sinon comme l'auteur même de la théorie de la sporulation des Diatomées, l'amour très vif que je possède pour cette étude, à laquelle j'ai consacré une bonne partie de ma vie, est précisément ce qui m'a poussé à réunir dans ce travail ce que j'ai fait et écrit sur ce sujet comme autant de documents sur cette question que je présente, dans l'intérêt de la science, aux diatomistes et aux biologistes.

Quel que soit le résultat de leur appréciation, je désire vivement la connaître et je l'attends avec impatience, car si, par amour-propre, il me serait agréable qu'elle me fût favorable, je ne serais cependant pas déconcerté s'il en était autrement, et j'espère que l'on m'excusera, du moins, si, sans avoir fait d'études préparatoires, sans aucun guide, sans y être obligé par devoir, mais uniquement animé du désir d'arriver à la connaissance de la vérité, j'ai osé aborder un sujet si difficile, qui m'a procuré bien des satisfactions, lesquelles m'ont fait rester fidèle à la tache entreprise, répondant à ceux qui m'enviaient, me voyant librement occupé de cette agréable étude, la phrase de Virgile :

Deus nobis hæc otia fecit.

REVUES ET ANALYSES (1)

Georg. Michel. — **La croissance des bacilles diphtéritiques sur différents sérums et sur l'agar glycériné** (*Centralblatt für Backteriologie u Parasitenkunde*, XXII, p. 259).

Il importe, dans le diagnostic bactériologique de la diphtérie, d'employer le milieu de culture le plus favorable pour le bacille diphtéritique. Or, on emploie comme tel généralement le sérum de Loeffler, c'est-à-dire du sérum de bœuf, additionné de bouillon. D'autres milieux ont toutefois été recommandés par différents auteurs ; ainsi Roux emploie le sérum sans bouillon, Miquel employait autrefois le sérum de cheval pur, il l'emploie aujourd'hui additionné de 5 p. 1000 de peptone, tandis que Deucher considère l'agar glycériné comme tout aussi bon.

M. Michel a entrepris, dans le laboratoire bactériologique de l'université de Berne, sous la direction du professeur Tavel, une série d'expériences comparatives à cet égard, dont le résultat est des plus intéressants. Il a employé communément les sérums de cheval et de bœuf, avec et sans addition de bouillon (3 parties de sérum et de bouillon) ainsi que l'agar glycériné dans 200 cas suspects de diphtérie. Le pinceau, promené sur les membranes, était lavé soigneusement dans 1 centimètre cube de bouillon, et l'on ensemençait ensuite les tubes de sérum et d'agar solidifiés avec 1/10 de centimètre cube de ce bouillon. Les tubes étaient tenus à l'étuve à 37 degrés et examinés une première fois après 20 heures environ ; un second examen avait lieu plus tard.

Il résulte des tableaux accompagnant ce travail que le sérum de cheval additionné de bouillon est le milieu le plus propice pour l'éclosion des colonies diphtéritiques. Dans 11 cas, dans lesquels ni le sérum de cheval normal, ni l'agar glycériné n'avaient donné de colonies diphtéritiques, le sérum de cheval additionné de bouillon permet d'établir le diagnostic de la diphtérie. Dans 141 des 200 cas examinés, la présence des bacilles diphtéritiques fut constatée sur l'un ou l'autre des milieux de culture : 137 fois sur le sérum de cheval additionné de bouillon, 122 fois sur l'agar glycériné,

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

93 fois sur le sérum de cheval sans bouillon, 55 fois sur le sérum de bœuf avec bouillon et seulement 48 fois sur le sérum de bœuf sans bouillon. Il est curieux que dans 4 cas où le sérum de cheval avec bouillon n'avait rien donné, des colonies diphtéritiques aient poussé sur d'autres milieux, mais peut tenir à un hasard de l'ensemencement.

La supériorité du sérum de cheval additionné de bouillon est, en outre, démontrée par l'aspect des cultures, ainsi qu'en font foi les phototypies annexées au mémoire de M. Michel. Sur sérum de bœuf et sur le sérum de cheval sans bouillon, les colonies se développent maigrement ; sur agar glycériné, la croissance est déjà bien meilleure, mais les plus belles colonies se voient sur le sérum de cheval additionné de bouillon.

Cependant, comme l'agar glycériné vaut mieux que le sérum pour les streptocoques et les staphylocoques, l'auteur recommande d'employer toujours aussi ce dernier en même temps que le sérum de cheval additionné de bouillon, pour pouvoir reconnaître aussi les infections mixtes.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de Ville), *Novembre* 1897.

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 44 du 31 octobre au 6 novembre 1897.	6.000	2.600	6°,1	0mm,0	N	7km,9	44	104
N° 45 » 7 nov. au 13 » . . .	6.540	3.170	9,4	4,0	S	11,2	40	114
N° 46 » 14 » » 20 » . . .	2.250	2.330	10,0	0,3	S	8,9	42	133
N° 47 » 21 » » 27 » . . .	4.310	2.200	3,3	0,1	E	9,2	53	116
N° » » » » » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	4.775	2.525	7°,2	4mm,4	Var.	37km,2	179	467
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies symotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la diphtérie, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (bronchite aiguë, broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Novembre 1897. Bactéries = 4.735 Moisissures = 2.270 Température = 10°,2

Analyse de l'air au Passage Saint-Pierre

Novembre 1897. Bactéries = 3.000 Moisissures = 3.500 Température = 7°,2

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Novembre* **1897.**

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Novembre 1897	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne au réservoir de Montrouge. .	95	1.120	»	»
» de la Dhuis au réservoir de Ménilmontant.	50	4.030	»	»
» de l'Avre au réservoir de Villejust . . .	125	1.825	»	»
» Boulevard Montparnasse, 80	100	2.195	»	»
» Rue des Vosges, 6	100	2.195	»	»
» Rue Volta, 14	800	2.195	»	»
» Rue Barbette	1.300	2.195	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	11.520	83.300	T = 8°,0	»
» de la Seine à Ivry	15.000	61.730	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	91.250	96.390	T = 8 ,4	Haut. = 0m,90
» de la Seine au pont de l'Alma.	20.000	262.500	»	»
» de la Seine à Argenteuil	125.000	4.497.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	10.625	75.310	»	»
4° Eaux de Puits de Paris				
Puits, Avenue de l'Opéra, 26.	867.000	»	»	»
» Rue de Passy, 47	10.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain du Moulin de Cage.	230	11.865	»	»
» d'Asnières	250	1.570	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	13.375.000	18.050.000	»	»

Diagnostics effectués par le Laboratoire de bactériologie de la Préfecture de la Seine pendant le mois de décembre 1897

Le nombre total des diagnostics réclamés au Laboratoire de bactériologie en décembre 1897 s'est élevé à 255.

Angines douteuses

AGES DES MALADES	ANGINES DIPHTÉRIQUES			ANGINES NON DIPHTÉRIQUES			TOTAUX DES DIAGNOSTICS
	M.	F.	T.	M.	F.	T.	
De 0 à 2 ans......	3	»	3	10	9	19	22
De 2 à 5 ans......	5	4	9	22	21	43	52
De 5 à 10 ans......	3	6	9	21	24	45	54
De 10 à 15 ans......	»	2	2	7	9	16	18
De 15 à 30 ans......	»	»	»	2	6	8	8
De 30 à 60 ans......	»	»	»	4	6	10	10
De 60 et au dessus...	»	1	1	»	»	»	1
Age et sexe inconnus.	»	»	1	»	»	6	7
Totaux.........	11	13	25	66	75	147	172

Total des diagnostics	172
Angines diphtériques......................	25
Angines non diphtériques..................	147
Proportion p. 100 des angines diphtériques.	14,5 p. 100

Pendant le mois de décembre de l'année 1897, il a été effectué 172 diagnostics d'angines douteuses, au nombre desquels l'analyse microscopique a décelé seulement 25 fois le bacille de Loeffler, ce qui porte à 14,5 p. 100 le taux des angines diphtériques. Pendant le mois de novembre de la même année, le taux de ces angines était de 26,3 p. 100, d'où une amélioration très notable dans la malignité des affections pharyngées.

Tuberculose.

Sur les 83 autres diagnostics réclamés au même laboratoire, 65 ont été relatifs à des produits soupçonnés tuberculeux, dans lesquels le bacille de Koch a été rencontré 28 fois.

BIBLIOGRAPHIE

E. Macé. — **Atlas de Microbiologie**, 1 volume gr. in-8 de 60 planches avec texte explicatif. — Librairie J.-Baillière et fils, 19, rue Hautefeuille, à Paris.

Le *Traité de Bactériologie* du docteur Macé, professeur à la Faculté de médecine de Nancy, directeur de l'Institut sérothérapique de l'Est, dont la première édition avait été présentée avec éloges par Pasteur à l'Académie des sciences, est devenu, grâce à un succès de trois éditions, l'ouvrage classique sur la matière. Une si haute consécration dispense de tout autre éloge. Mais dans le temps écoulé depuis l'époque de la première édition, les progrès faits dans cette science ont été considérables. Aussi, sans modifier la disposition générale de l'ouvrage approuvée par l'illustre maître, a-t-il fallu faire de nombreuses additions nécessitées par les découvertes nouvelles. De là l'extension de la nouvelle édition qui vient de paraître et qui se présente avec le double de pages et de figures. C'est à proprement parler un ouvrage nouveau au courant des plus récentes découvertes. Comme complément de ce traité, M. Macé publie un *Atlas de Microbiologie* qui est la reproduction de plus de 500 superbes aquarelles exécutées dans son laboratoire.

Il n'est pas inutile de rappeler quelle est, dans l'étude d'une science aussi complexe que la *Microbiologie* telle qu'on la conçoit aujourd'hui, l'importance très grande d'une représentation exacte des caractères de cultures sur les milieux habituellement employés, des formes que présentent les principaux microbes aux grossissements nécessaires pour bien les étudier. C'est la majeure partie des caractères qui priment pour les déterminations spécifiques souvent bien délicates.

Aussi, tous ceux qui étudient les microbes reconnaîtront-ils la grande utilité de ce bel Atlas où la préoccupation dominante a été de reproduire, aussi exactement que possible et sous une forme la plus profitable pour l'enseignement, les caractères naturels des organismes étudiés. C'est une qualité qui sera certainement appréciée.

Cet atlas de 60 planches comprend près de 500 figures toutes dessinées d'après nature sous les yeux de l'auteur, et reproduites en nombreuses couleurs par les procédés typographiques les plus nouveaux et les plus perfectionnés. Cet atlas paraît en 3 fascicules de 20 planches.

Voici le sommaire des espèces microbiennes représentées dans le premier fascicule : Bacille de la tuberculose. — B. du charbon. — B. de la diphtérie. — Staphylocoque pyogène doré. — Streptocoque pyogène. — B. typhique. — Colibacille. — Pneumocoque. — B. de la morve. — B. pyocyanique. — Spirille du choléra. — Sp. de Finckler. — Sp. de Metschnikoff. — Cladothrix divers.

Le fascicule I est en vente, les fascicules 2 et 3 paraîtront à bref délai, le prix total de l'atlas est de 30 fr.

PUBLICATIONS RÉCENTES

E. Pfuhl. — Ueber die Verschleppung von Bakterien durch das Grundwasser. Du transport des bactéries par l'eau de la nappe souterraine (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XXX, p. 549).

E.-A. de Schweinitz et Marion Dorset. — Some products of the tuberculosis bacillus and the treatment of experimental tuberculosis with antitoxic serum. Quelques produits du bacille de la tuberculose et le traitement de la tuberculose expérimentale avec le sérum antitoxique (*Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, première section, XXII, p. 209).

Dr Roberts Binaghi. — Ueber einen Streptococcus capsulatus. Sur un streptocoque à capsule (*Centralblatt für Bakteriologie*, première section, XXII, p. 273).

LISTE ALPHABÉTIQUE DES AUTEURS

DONT LES MÉMOIRES ONT ÉTÉ ANNONCÉS DANS LE TOME IX

S

T

V

W

Z

TABLE DES MATIÈRES [1]

(1) Les articles précédés d'un astérisque ont fait l'objet travail original publié dans les *Annales de Micrographie*.

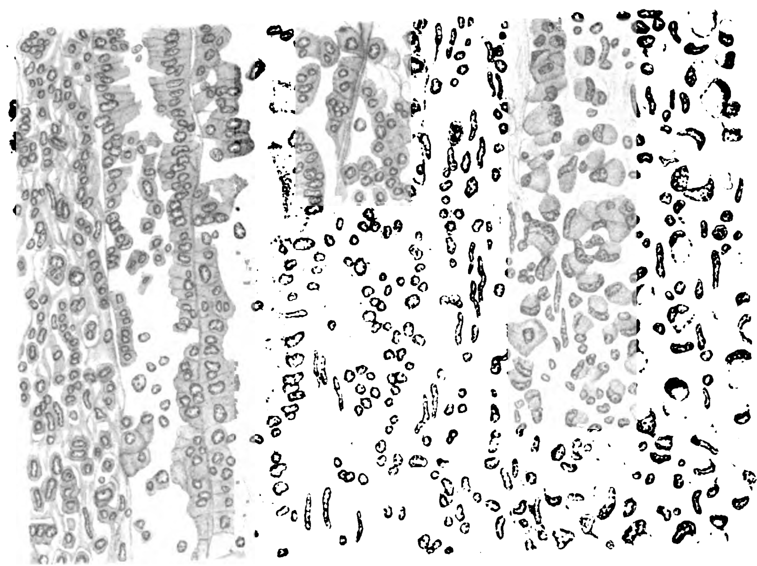
N

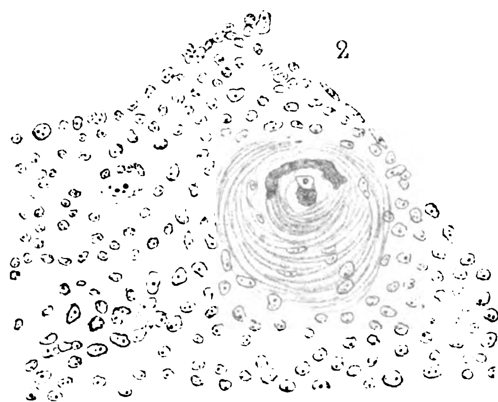
O

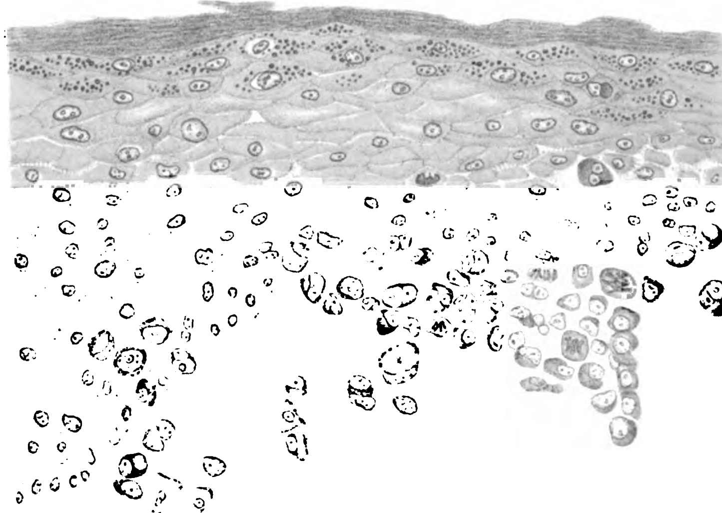
P

L'Éditeur-Gérant : C. NAUD.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.







G. Landel del.

Imp. Lemercier, Paris.

Evolution muqueuse dans le Cancer.



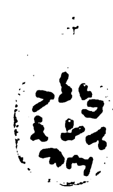
G. Landel del.

Evolution muqueuse dans le Cancer





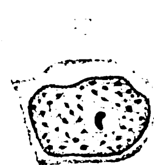






18











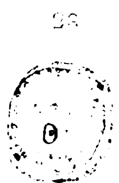


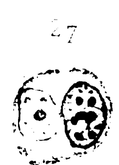


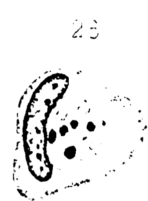


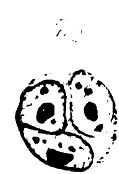






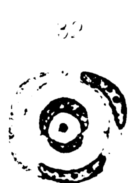










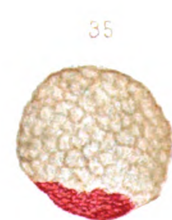


33





35



Tome Neuvième. № 12 Décembre 1897

ANNALES DE MICROGRAPHIE

SPÉCIALEMENT CONSACRÉES

A LA BACTÉRIOLOGIE

AUX PROTOPHYTES ET AUX PROTOZOAIRES

RÉDACTEUR PRINCIPAL

P. MIQUEL, Docteur en médecine, Docteur ès Sciences
Directeur du Service micrographique à l'Observatoire municipal de Montsouris

SECRÉTAIRES DE LA RÉDACTION

FABRE-DOMERGUE, Docteur ès Sciences, Directeur adjoint du laboratoire de Zoologie maritime de Concarneau.

Ed. DE FREUDENREICH, Directeur du Service bactériologique de l'école de laiterie de la Rütti (Berne).

PRIX DE L'ABONNEMENT

PARIS : UN AN, 20 FR.

DÉPARTEMENTS ET UNION POSTALE : 22 FR.

PARIS

GEORGES CARRÉ ET C. NAUD, ÉDITEURS

3, RUE RACINE, 3

Tours — Imprimerie DESLIS FRÈRES, rue Gambetta.

TOME IX | OCTOBRE 1897 | N° 10

Georges CARRÉ et C. NAUD, Éditeurs, 3, rue Racine, PARIS

Tours. — Imprimerie DESLIS FRÈRES, 6, rue Gambetta.



